BEITRÄGE ZUR KENNTNIS

DES

HÄMATINS

ÜBER DEN

CHEMISMUS DER HÄMATOPORPHYRIN- UND MESOPORPHYRIN-BILDUNG

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

EINER

HOHEN NATURWISSENSCHAFTLICHEN FAKULTÄT
DER EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT ZU TÜBINGEN

VORGELEGT VON

PAUL DEIHLE
AUS STUTTGART

ACAD.
LUGD. BAT.
BIBL.

STUTTGART
BUCHDRUCKEREI DER PAULINENPFLEGE
1913

Von der Fakultät angenommen den 9. Mai 1913.

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit

gewidmet.

Vorliegende Arbeit wurde auf Anregung und unter Leitung von Herrn Professor Dr. W. KÜSTER im chemischen Laboratorium der K. Tierärztlichen Hochschule zu Stuttgart ausgeführt und im physiologisch-chemischen Institut der K. Universität Tübingen beendigt.

Es sei mir gestattet, an dieser Stelle meinen hochverehrten Lehrern, Herrn Professor Dr. W. KÜSTER und Herrn Professor Dr. H. THIERFELDER, für ihre Unterstützung meinen besten Dank auszusprechen.

Der Verfasser.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

A. Theoretischer Teil 1

B. Experimenteller Teil 15

I. Abschnitt: Über das Hämatoporphyrin 15

1. Gewinnung des Ausgangsmaterials 15

a) Darstellung von Äthämin 15

b) Darstellung von Hämatoporphyrin 18

2. Anhydrohämatoporphyrin, durch Einwirkung von Azeton . 20

3. Über die Salze des Hämatoporphyrins (Na, K, NH_4, Ag, Zn) . 23

4. Veresterung von Hämatoporphyrin mit Methylalkohol und Salzsäure 30

a) Dimethylester 30

b) Tetramethylderivat 32

5. „Zwischenprodukt" der Hämatoporphyrin-Bildung bei Ersatz von Wasser durch Methylalkohol 35

a) Tetramethylätherester 37

b) Dimethyläther 39

c) Monomethyläther 42

6. Einwirkung von Dimethylsulfat in alkalischer Lösung auf Hämatoporphyrin 43

7. Komplexe Salze 46

a) des Dimethyläthers 46

b) des Dimethylesters 50

8. Oxydation von Hämatoporphyrin mittels CrO_3 und SO_4H_2 52

9. Wiedereinführung von Eisen in Hämatoporphyrin 54

II. Abschnitt: Über das Mesoporphyrin 56

1. Gewinnung des Ausgangsmaterials 56

a) Darstellung von Rohmesoporphyrin 56

b) Reinigung des Rohmaterials 57

2. Oxydation des Mesoporphyrins mittels CrO_3 und SO_4H_2 . 58

3. Über das „Nebenprodukt" des Mesoporphyrins 64

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547017_0119

A. Theoretischer Teil.

Mit dem Namen Hämatoporphyrin bezeichnen wir zurzeit ein chemisches Individuum, das sich aus den Teichmannschen Blutkristallen, dem Hämin, darstellen läßt, und bringen seine Zusammensetzung durch die Formel $C_{34}H_{38}O_6N_4$ zum Ausdruck. In der Literatur wurde dieser Name anfangs für zwei Körper gebraucht, die zwar in ihrem Spektrum die nämlichen charakteristischen Absorptionsstreifen, in ihrem übrigen Verhalten dagegen verschiedene Eigenschaften zeigten.

Der eine dieser Körper wurde zuerst von Hoppe-Seyler[1]) näher beschrieben, der zweite von Nencki.[2])

Hoppe-Seyler nahm ältere Versuche von Mulder und van Goudoever[3]) wieder auf. Er ließ auf Hämatin bei Luftzutritt konzentrierte Schwefelsäure einwirken und goß die erhaltene Lösung in Wasser, wobei ein Ausfall eintrat. Er nannte Hämatoporphyrin das in Alkalien lösliche, in verdünnten Säuren unlösliche eisenfreie Produkt, das sich allerdings in starken Säuren löste, beim Verdünnen mit Wasser aber sofort wieder ausfiel. Für diesen Körper ermittelte er die Formel $C_{68}H_{74}O_{12}N_8$.

Eigenartig ist, daß wir heute nach mancherlei Änderungen wieder eine Formel als richtig annehmen, die genau der halben Hoppe-Seylerschen Formel ent-

[1]) Medizinisch-chemische Untersuchungen S. 529.
[2]) Archiv f. exp. Path. und Pharm. 20. 330.
[3]) Journal f. prakt. Chemie 32. 186.

spricht, mit einer kleinen Änderung im Wasserstoffgehalt, nämlich $C_{34}H_{38}O_6N_4$.

Neben diesem Produkt erhielt Hoppe-Seyler oft in beträchtlicher Menge ein Nebenprodukt, Hämatolin[4]) genannt, das sowohl in Alkalien, wie auch in konzentrierten Säuren unlöslich war. Dieses Produkt entstand ausschließlich, wenn er bei Luftabschluß arbeitete.

Das Eisen des Hämatins fand Hoppe-Seyler nach der Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure als Ferrosulfat abgeschieden, ein Resultat, das mit seiner aus andern Versuchen abgeleiteten Annahme, das Eisen sei im Hämatin in der Oxydform vorhanden, nicht übereinstimmte und für das er eine Erklärung nicht zu geben vermochte.

M. Nencki[5]) lehrte die Darstellung seines Hämatoporphyrins aus Hämin mittels Eisessig, der mit Bromwasserstoff gesättigt ist, und gelangte, obgleich das so erhaltene Hämatoporphyrin sich als ein leicht veränderlicher Körper erwies, durch die Analyse kristallisierter, scharf charakterisierbarer Derivate, und zwar namentlich des Natriumsalzes und des chlorwasserstoffsauren Salzes, zur Aufstellung der Formel $C_{16}H_{18}O_3N_2$.

Das Nenckische Hämatoporphyrin wies also sowohl saure als auch basische Eigenschaften auf.

Da Nencki[6]) ferner für das Hämin die Formel $C_{32}H_{31}O_3N_4FeCl$ bewiesen zu haben glaubte, ergab sich die folgende Gleichung für die Bildung seines Hämatoporphyrins:

$$C_{32}H_{31}O_3N_4FeCl + 2HBr + 3H_2O = 2C_{16}H_{18}O_3N_2 + FeBr_2 + HCl + 2H$$

Diese Formel für Hämatoporphyrin hat viel Verwirrung angerichtet, unter anderem auch deshalb, weil sie in Zusammenhang mit der empirischen Formel des

---

[4]) Medizinisch-chemische Untersuchungen S. 129.
[5]) Archiv f. exp. Path. und Pharm. 24. 432.
[6]) Archiv f. exp. Path. und Pharm. 24. 440.

Gallenfarbstoffs Bilirubin gebracht und daraus eine Isomerie dieser beiden Farbstoffe konstruiert wurde, die tatsächlich nicht besteht.

Einige Jahre später konnte Nenckis Schüler Zaleski[7]) beweisen, daß dem Hämatoporphyrin die Formel $C_{34}H_{38}O_6N_4$ zukommt. Diese Tatsache fand Zaleski auf Grund seiner Untersuchungen über das Mesoporphyrin, einen dem Hämatoporphyrin sehr nahe verwandten Farbstoff. Er bewies für diesen Körper, der fast dieselben Absorptionsbänder im Spektrum zeigt wie das Hämatoporphyrin, die Formel $C_{34}H_{38}O_4N_4$, und fand bei Molekulargewichtsbestimmungen mit dem gut kristallisierenden Mono- und Diäthylester Zahlen, welche auf das Einfache dieser Formel hinwiesen.

Darauf verließ man auch die von Nencki eingeführte Häminformel und formulierte die Bildung des Hämatoporphyrins folgendermaßen:

$$C_{34}H_{32}O_4N_4FeCl + 2HBr + 2H_2O = C_{34}H_{38}O_6N_4 + Fe\begin{matrix}Br_2\\Cl\end{matrix}$$

Die beiden gegebenen Formulierungen unterscheiden sich, abgesehen von der Anzahl der Kohlenstoff- und Sauerstoffatome im organischen Molekül, wesentlich dadurch, daß in dem ersten Fall ein Freiwerden von Wasserstoff und das Auftreten einer Ferroverbindung, im zweiten dagegen lediglich das Entstehen eines Ferrisalzes vorauszusehen ist.

Tatsächlich wurde von Nencki[8]) das Eisen sowohl in der Ferro- wie in der Ferristufe aufgefunden, und dieses Ergebnis wurde denn auch von W. Küster[9]) bestätigt, während Piloty[10]) später angab, nur dreiwertiges Eisen als Reaktionsprodukt aufgefunden zu haben.

---

[7]) Zeitschrift f. physiol. Chemie 37. 54 u. f.
[8]) Nencki, Opera omnium Bd. II. S. 76.
[9]) Zeitschrift f. physiol. Chemie 18. 40.
[10]) Annalen d. Chemie 377. 350 (1910).

Auch ich kann diesen Befund bestätigen, so daß anzunehmen ist, daß die Bildung eines Ferrosalzes als sekundärer Prozeß angesehen werden darf, darauf beruhend, daß das primär abgespaltene Ferrisalz auf die organische Materie oxydierend eingewirkt hat.[11])

Während nun dieser Vorgang bei der Einwirkung von Schwefelsäure oder Salzsäure auf Hämin oder Hämatin gar nicht vermieden werden kann, und das von Hoppe-Seyler beobachtete Auftreten von Ferrosulfat hiedurch eine vollkommen befriedigende Erklärung findet, wird gerade bei der Nenckischen Methode der Hämatoporphyrindarstellung dieser sekundäre Prozeß ausgeschlossen, was auf den Einfluß des überschüssigen Bromwasserstoffs zurückgeführt werden kann.[12])

Bei dieser Methode beobachtete ich bei möglichstem Ausschluß von Luftfeuchtigkeit niemals das Auftreten von Ferrosalz.

In diesem Fall war auch die Menge eines von Nencki[13]) und von W. Küster[14]) beobachteten sogenannten „Nebenproduktes" stets eine verschwindende. Nencki brachte das Auftreten des letzteren mit der nach seiner Gleichung geforderten Bildung von Wasser-

---

[11]) Wie das zuerst von W. Küster behauptet und durch Versuche bewiesen wurde.

[12]) Einen Beweis für die Richtigkeit der Tatsache, daß das durch Salzsäure abgespaltene Ferrichlorid oxydierend wirkt, während dieser Prozeß bei Anwesenheit von überschüssigem Bromwasserstoff nicht eintritt, erbringt das Verhalten der Leukoverbindungen der Rosindole E. Fischers (Berichte 20. 815. Annalen 242. 372), die ich zum Vergleich heranzog. Löst man eine Messerspitze des Kondensationsproduktes aus einem Molekül o-Oxybenzaldehyd mit zwei Molekülen α-Methylindol in Eisessig und bringt zu der schwach gelblich gefärbten Lösung ein paar Tropfen einer Auflösung von Ferrichlorid in Eisessig, so tritt nach kurzem Erhitzen eine Rotfärbung auf und die Lösung tingiert prächtig blaurot; ein paar Tropfen einer Auflösung von Ferribromid in Eisessig bewirken diese Färbung nicht, die Lösung tingiert gelb.

[13]) Archiv f. exp. Path. und Pharm. 24. 432.

[14]) Zeitschrift f. physiol. Chemie 18. 38.

stoff in Zusammenhang, welche Annahme jedoch als eine irrtümliche bezeichnet werden darf.

Auch in freiem Zustand tritt Wasserstoff nicht auf, wie schon Hoppe-Seyler und Nencki bei der Hämatoporphyrindarstellung mit Hilfe von Schwefelsäure gefunden hatten; und so fallen alle Voraussetzungen für die von Nencki gegebene Formulierung, wie es nach Zaleskis[15]) analytischem Befund nicht anders zu erwarten war.

Nimmt man die Gleichung Zaleskis, welche den Vorgang in ungezwungener Weise widerspiegelt, als die richtige an, so ersieht man hieraus, daß neben dem Ersatz der Chlorferrigruppe durch zwei Wasserstoffatome auch noch eine Einlagerung von Wasser erfolgt.

Piloty[16]) nimmt nun in seiner Formel für das Hämin zwei Laktamgruppen an und erklärt die Hämatoporphyrinbildung so, daß die Laktamgruppen gesprengt und an dieser Stelle Wasser eingelagert wird.

Im Gegensatz hiezu vertritt W. Küster[17]) den Standpunkt, daß sich bei der Hämatoporphyrinbildung neben der Elimination von Eisen primär eine Addition von Bromwasserstoff an zwei Doppelbindungen im Hämin vollzieht und daß erst sekundär ein Ersatz von Brom durch Hydroxyl eintritt.

Die Annahme Pilotys wird nun wohl der Tatsache gerecht, daß Hämotoporphyrin eine stärkere Säure ist als Hämin und daß es zugleich auch basische Eigenschaften besitzt, aber sie widerspricht einer ganzen Reihe anderer Beobachtungen.

Die beiden im Hämin vorhandenen Hydroxyle, welche die Zweibasigkeit desselben bedingen, sind im Hämatoporphyrin auch noch vorhanden und letzteres

---

[15]) Zeitschrift für physiol. Chemie 37. 54 u. f.
[16]) Annalen 377. 352.
[17]) Berichte 45. 1937.

müßte dann, wenn nach Piloty noch zwei Karboxyle dazukommen, vierbasisch sein. Das ist aber keineswegs der Fall. Es bildet nämlich ein kristallisierendes Natriumsalz mit zwei Atomen Natrium im Molekül und ein Silbersalz mit zwei Atomen Metall. Ferner läßt sich Hämatoporphyrin nach meinen Beobachtungen durch zehn Minuten dauerndes Erhitzen mit 1% Salzsäure haltendem Methylalkohol sehr leicht verestern und bildet unter Eintritt von zwei Methylen einen Ester, der in Alkalien, selbst in kalter Natronlauge nicht mehr löslich ist.

Und wenn nun Piloty[18]) als einen weiteren Grund gegen die Annahme einer primären Anlagerung von Bromwasserstoff die Bildung von Hämatoporphyrin unter dem Einfluß von Schwefelsäure oder auch von Salzsäure anführt, wenn er also den letztgenannten Säuren das Vermögen abspricht, sich an eine Doppelbindung anlagern zu können, so läßt er zahlreiche Beispiele außer acht, bei denen vom Anlagerungsvermögen dieser Säuren praktischer Gebrauch gemacht wird.[19])

In Wirklichkeit wirkt schon verdünnte Schwefelsäure auf fertig gebildetes Hämatoporphyrin so ein, daß ein in Säuren und Basen unlöslicher Körper entsteht; sie sprengt also nicht Laktamgruppen, sondern sie erzeugt solche, und die Unlöslichkeit des Hämatoporphyrins von Hoppe-Seyler in verdünnten Säuren ist sicherlich auf einen ganz ähnlichen Prozeß zurückzuführen, der schon bei der Darstellung eingetreten ist.

Eine ähnliche Beobachtung konnte ich bei der Behandlung des Hämatoporphyrins mit Azeton machen. Auch dieses nimmt aus dem Farbstoff die Elemente des Wassers heraus und erzeugt ein Anhydroprodukt, das sich aber als sowohl in Säuren wie in Basen löslich erweist.

[18]) Annalen 377 (1900).

[19]) Z. B. bei der Darstellung von Amylenhydrat.

Einen weiteren Beweis für die Richtigkeit der Ansicht W. Küsters, daß nämlich bei der Hämatoporphyrinbildung intermediär ein Bromwasserstoffadditionsprodukt entsteht, das durch Wasser zersetzt wird unter Austausch zweier Bromatome gegen zwei Hydroxylgruppen, konnte ich dadurch erbringen, daß ich nach der Einwirkung des Eisessigbromwasserstoffs auf das Hämin und nach dem Abdestillieren des ersteren das Wasser durch Methylalkohol ersetzte. Es trat hiebei an Stelle von Hydroxyl Methoxyl ein und es war damit der Beweis erbracht, daß der Chemismus der Hämatoporphyrinbildung nach folgendem Schema verläuft:

$$C_{34}H_{32}O_4N_4FeCl + 4HBr = Fe\begin{matrix}Br_2\\Cl\end{matrix} + C_{34}H_{34}O_4N_4(HBr)_2$$

$$C_{34}H_{34}O_4N_4(HBr)_2 + 2H_2O = C_{34}H_{38}O_6N_4 + 2HBr$$

Allerdings erfolgte dann gleichzeitig noch Veresterung, so daß das entstandene Produkt vier Methyle enthielt. Dieser Ätherester ließ sich jedoch durch Schütteln mit 5%iger Salzsäure leicht verseifen und ich erhielt dabei den in Natriumbikarbonat leicht löslichen Dimethyläther des Hämatoporphyrins.

Es unterliegt also keinem Zweifel, daß sich bei der Darstellung von Hämatoporphyrin aus Hämin zwei Moleküle Bromwasserstoff primär an zwei Doppelbindungen im Hämin anlagern und daß sowohl Schwefel wie Salzsäure analog wirken. Bei den beiden letzteren kommen allerdings noch die oben erwähnten störenden Nebenwirkungen dazu, welche die Ausbeuten an Hämatoporphyrin herabdrücken.

Mit dem Hämatoporphyrin sehr nahe verwandt ist das Mesoporphyrin. Es unterscheidet sich von diesem in seiner empirischen Formel nur dadurch, daß es zwei Atome Sauerstoff im Molekül weniger besitzt als ersteres.

Es entsteht bei der Behandlung von Hämin mit Jodwasserstoff in essigsaurer Lösung.[20]) Da wo sich bei der Hämatoporphyrinbildung Bromwasserstoff anlagert und nachher Hydroxyl eintritt, tritt hier nur Wasserstoff ein.

Den Beweis dafür lieferte mir die Oxydation des Mesoporphyrins, bei der ich im Gegensatz zum Hämin und Hämatoporphyrin neben Hämatinsäure auch Methyläthylmaleinimid erhielt. Das ist aber nicht anders zu erklären, als daß zwei im Hämin vorhandene Vinylgruppen durch Einführung von Wasserstoff in Äthylgruppen übergehen und dann bei der Oxydation Imid liefern.

Widerspruch findet diese Annahme bei Hans Fischer,[21]) der die Ansicht vertritt, daß hier keine Vinylgruppen vorliegen können, weil er bei der Reduktion des Hämins mit Natriumamalgam und nachfolgender Oxydation kein Imid erhielt.

Demgegenüber wäre auf die Arbeit von H. Emde[22]) über die Aufspaltung des hydrierten Isochinolinrings zu verweisen, wo erwiesen ist, daß die Vinylgruppen der Einwirkung von Natriumamalgam sehr wohl standhalten können.

Zusammenfassung meiner Ergebnisse.

Für das von mir nach dem Verfahren von Nencki hergestellte Hämatoporphyrin erhielt ich bei meinen Analysen Werte, die besser auf die Formel $C_{34}H_{36}O_6N_4$ stimmten, als auf die gewöhnlich bevorzugte, die im Molekül zwei Wasserstoffatome mehr besitzt. Allerdings würde dann diese Formel mit der Bildungsgleichung nicht ganz in Einklang zu bringen sein, wenn

[20]) Zaleski, Bullet. de l'Académie des Sciences de Cracovie 1907 p. 640.
[21]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 82, 96.
[22]) Liebigs Annalen d. Chemie 391. 88 (1912).

im Hämin die Anzahl der Wasserstoffatome im Molekül zu 32 angenommen wird.

Bei der Behandlung mit Azeton verliert das Hämatoporphyrin ein Molekül Wasser. Dieses „Anhydrohämatoporphyrin" ist ein intermolekularer Äther, der zwar in Alkalien und Säuren noch löslich ist, der aber bei der Behandlung mit Dimethylsulfat in schwach alkalischer Lösung kein Methyl mehr aufnimmt. Dagegen läßt er sich mit Alkohol und Salzsäure glatt verestern.

Hämatoporphyrin bildet mit Metallen Salze und zwar sind im Molekül zwei Wasserstoffatome durch Metall ersetzbar. Ich erhielt ein Natrium- und ein Silbersalz, die je zwei Metallatome enthielten, und ein Zinksalz, mit einem Atom Metall im Molekül.

Durch 10 Minuten dauerndes Erwärmen des Hämatoporphyrins mit 1% Chlorwasserstoff haltendem Methylalkohol erhielt ich leicht den Dimethylester. Dieser ist in Alkalien nicht löslich, dagegen in 5%iger wässriger Salzsäure und wird durch diese bei längerem Schütteln vollständig verseift. Sein Schmelzpunkt liegt bei 140—141°.

Hämatoporphyrin verhält sich also wie eine zweibasische Säure.

Eine Ausnahme macht es hievon nur dem Ammoniak gegenüber.

Löste ich zum Beispiel (etwa 0,2) analytisch genau abgewogenes Hämatoporphyrin in einem Überschuß von wässriger Zehntelnormalammoniakflüssigkeit ohne jede Erwärmung auf, verdünnte die klare Lösung mit dem gleichen Volumen Wasser und destillierte unter vermindertem Druck und bei niederer Temperatur so lange, in eine Vorlage mit Zehntelnormalschwefelsäure als noch Ammoniak überging, so erhielt ich nach dem Zurücktitrieren der Schwefelsäure für das an den Farbstoff gebundene Ammoniak Werte, welche auf den Ein-

tritt von drei Molekülen desselben in ein Molekül Hämatoporphyrin hinwiesen. Diese merkwürdige Erscheinung hätte sich bei Anwendung gasförmigen Ammoniaks leichter erklären lassen können als hier, wo nur mit ganz verdünnten wässrigen Lösungen gearbeitet wurde.

Bemerkenswert ist auch das Verhalten des Hämatoporphyrins bei anhaltendem Kochen mit viel Salzsäure enthaltendem Alkohol. Bei 6 bis 8 Stunden dauerndem Kochen mit 5% Salzsäure enthaltendem Methylalkohol gelangte ich zu einem, allerdings nur amorphen, Tetramethylderivat des Hämatoporphyrins. Dieses konnte ich, wie auch Nencki, nicht in reiner Form erhalten. Das Präparat war in Alkalien unlöslich, schmolz zwischen 80 und 83° und konnte durch längeres Kochen mit dem salzsäurehaltenden Methylalkohol allmählich wieder verseift werden.

Die alkoholischen Hydroxylgruppen des Hämatoporphyrins sind also sehr leicht zu methylieren; es ist aber nicht ausgeschlossen, daß hier tiefergehende Einwirkungen stattgefunden haben, um so mehr, als der Schmelzpunkt ein ganz anderer ist, als derjenige meines auf anderem Wege erhaltenen Tetramethylderivates, des Ätheresters, dessen Schmelzpunkt 128° ist.

Wenn ich nach der Überführung des Hämins in das Bromwasserstoffadditionsprodukt des Hämatoporphyrins das Lösungsmittel im Vakuum vollständig abdestillierte, das Wasser dann durch absoluten Methylalkohol ersetzte und kurze Zeit erwärmte, so konnte ich einen Farbstoff isolieren, der in makroskopischen, schwarzrot gefärbten Kristallen aus dem Alkohol auskristallisierte. Diese schmolzen bei 128 bis 129° und erwiesen sich als tetramethyliertes Hämatoporphyrin. Dieser Ätherester ist in Alkali unlöslich.

Durch Verseifen mit 5%iger Salzsäure läßt er sich leicht in den Dimethyläther überführen, der in Natriumbikarbonat löslich ist und den Schmelzpunkt 105°

besitzt. Mit zwei Molekülen Chlorwasserstoffsäure bildet er ein in schönen Nadeln kristallisierendes Salz und läßt sich so analysenrein gewinnen.

Zu einem Äther gelangte ich auch direkt vom Hämatoporphyrin aus, indem ich in schwach alkalischer Lösung Dimethylsulfat auf den Farbstoff einwirken ließ. Allerdings erhielt ich hiebei immer nur sehr schlechte Ausbeuten, da auch durch stärkeres Alkali sehr leicht Verseifung eintritt.

Merkwürdig zusammengesetzt sind die zugehörigen Metallsalze. Das Silbersalz enthält im Molekül, das Zinksalz im doppelten Molekül drei Atome Metall. Es muß also Komplexsalzbildung eingetreten sein, und zwar schon beim Arbeiten in wässriger Lösung, welche ihre Ursache in der Leichtbeweglichkeit der Imidwasserstoffatome im Zusammenhang mit der Ätherifikation hat.

Auch bei dem Ester tritt die Komplexsalzbildung außerordentlich leicht ein.

Durch Lösen des Esters in Methylalkohol, Zugabe einer methylalkoholischen Zinkazetatlösung und langsames Verdunsten des Lösungsmittels konnte ich ein in kugligen Aggregaten kristallisierendes komplexes Zinksalz des Esters erhalten, das im Molekül ein Atom Metall enthielt.

In Anlehnung an Versuche Zaleskis[23]) mit dem Mesoporphyrin konnte ich durch Eintragen frisch bereiteter Ferroazetatlösung in die erwärmte Lösung des Esters in 80%iger Essigsäure ein komplexes Eisensalz in kugeligen bis hantelförmigen Kristallen gewinnen. Das Salz enthält ein Atom Eisen im Molekül. Es besitzt wie das Hämatoporphyrin die Eigenschaft, drei Moleküle Ammoniak zu binden, wie ich durch Auflösen in Zehntelnormalammoniak und nachheriges Zurücktitrieren des freien Ammoniaks zeigen konnte.

[23]) Zeitschrift f. physiol. Chemie 37. 70 und 43. 12.

Das isomere Eisensalz entstand ferner zufolge einer sekundären Reaktion bei der Darstellung des tetramethylierten Hämatoporphyrins. Es blieb bei der Gewinnung des Dimethyläthers als der in Salzsäure nicht übergehende Teil in der Ätherlösung zurück und ich gewann das Komplexzalz dann durch Abdestillieren des Äthers. Auf diesem Wege erhielt ich es zwar nur in amorpher Form, aber es zeigte dieselben Eigenschaften und ergab bei der Analyse die gleichen Werte wie das aus dem Ester durch Einwirkung von Ferroazetat hergestellte Komplexsalz.

Bei der Oxydation von Hämatoporphyrin in schwefelsaurer Lösung mittels Chromsäure erhielt ich neben Hämatinsäure noch Oxalsäure und Bernsteinsäure, aber kein Methyläthylmaleinimid.

Dagegen gewann ich bei der analog durchgeführten Oxydation von Mesoporphyrin neben Hämatinsäure auch Methyläthylmaleinimid, und zwar je ein Molekül. Dieser Befund beweist die schon oben besprochene Anwesenheit von Vinylgruppen im Hämin. Außerdem erhielt ich als weitere Oxydationsprodukte noch Oxalsäure und Bernsteinsäure.

Im Verfolg der Frage, ob es möglich wäre, durch Einführen von Eisen in das Hämatoporphyrin wieder zum Hämatin zu gelangen, führte Laidlaw[24]) Versuche aus, auf Grund deren Resultate er diese Frage in bejahendem Sinn beantwortete.

Er beschreibt die Ausführung dieses Versuches folgendermaßen: „Man versetzt eine schwach ammoniakalische und auf dem Wasserbad erwärmte wässrige Aufschwemmung von Hämatoporphyrin mit Stokes' Reagens[25]) und einigen Tropfen 50%iger

[24]) Journal of Physiol. 31. 464 (1904).

[25]) Stokes' Reagens stellte sich Laidlaw in der Weise her, daß er je eine Lösung von 1,0 kristallisiertem Ferrosulfat (= 1 Mol.) und von 0,7 Ammoniumtartarat (= 1 Mol.) in ausgekochtem Wasser vermischte,

Hydrazinhydratlösung. Die Mischung erwärmt man ein bis zwei Stunden lang unter Ersatz des verdunstenden Ammoniaks. Die Flüssigkeit zeigt dann das Spektrum des Hämochromogens, respektive unmittelbar nach dem Schütteln mit Luft das des alkalischen Hämatins. Das Hydrazinhydrat wird durch starke Natronlauge zersetzt und das Ammoniak durch Kochen vertrieben. Auf Säurezusatz fällt Hämatin aus, das zur Reinigung noch in Alkali gelöst und durch Säure gefällt werden muß."

Auf diese Weise erhielt Laidlaw einen amorphen Körper, den er auf Grund der Tatsache, daß sich das Eisen als fest gebunden erwies, und des spektroskopischen Verhaltens seiner alkalischen Lösung für Hämatin ansprach, hat dies aber nur durch eine Eisenbestimmung belegt.

Nach unserer Auffassung kann das kein Hämatin gewesen sein, da ja bei der Darstellung von Hämatoporphyrin in dieses Wasser eintritt und letzteres dann wieder abgespalten werden müßte, ein Vorgang, der bei den angeführten Arbeitsbedingungen nicht erwartet werden kann. Es ist nun schon durch den Umstand, daß er sein „Hämatin" nur amorph erhielt, wahrscheinlich gemacht, daß das Präparat nicht rein war. Denn auch durch wiederholtes Aufnehmen in Alkali und Fällen mit Säure lassen sich Verunreinigungen, die ähnliche Lösungsverhältnisse besitzen, nicht entfernen. Zum andern hat es sich bisher als unmöglich erwiesen, in alkalischer Lösung vom Hämatin zum kristallisierten Hämin zu gelangen.

Ich habe Laidlaws Versuche wiederholt und versucht, das amorphe Reaktionsprodukt in einen dem Hämin ähnlichen Körper zu verwandeln, aber genau charakterisierbare Produkte hiebei nicht erhalten.

---

soviel Ammoniak zugab, daß der entstandene Niederschlag sich gerade wieder löste und das Ganze zu 10 cm^3 mit Wasser verdünnte. Die Lösung war von dunkelgrün-brauner Farbe.

Wie oben schon erwähnt, war es Zaleski[26]) gelungen, Eisen in das Mesoporphyrin einzuführen. Er löste zu dem Zweck den Farbstoff in einer warmen Mischung von Essigsäure und Methylalkohol auf und ließ langsam so viel frisch bereitete Ferroazetatlösung zutropfen, bis Farbenumschlag eintrat. Beim Erkalten schied sich dann der eisenhaltige Körper in schönen Kristallen ab.

Auch beim Hämatoporphyrin konnte ich ein ähnliches Verhalten beobachten. Brachte ich nämlich den nach der Vorschrift Laidlaws erhaltenen Körper mit Methylalkohol und einigen Tropfen verdünnter Schwefelsäure in Lösung, gab Salzsäure zu und erwärmte einige Zeit auf dem Wasserbad, so schieden sich beim Erkalten Kristalle ab, die in ihrer Form und Zusammensetzung mit Hämin große Ähnlichkeit zeigten.

---

[26]) Zeitschrift f. physiol. Chemie 43. 11.

B. Experimenteller Teil.

I. Abschnitt: Über das Hämatoporphyrin.

1. Gewinnung des Ausgangsmaterials.

a) Darstellung von Azethämin.

(Nach der Methode von Schalfejeff[1]) und Nencki-Zaleski[2]), umkristallisiert nach W. Küster[3].)

Zur Darstellung des Hämins benützte ich frisches, defibriniertes Ochsenblut, das vor der Verarbeitung durch ein Koliertuch gegossen und so von groben Verunreinigungen befreit worden war.

Eine Reihe von 5—6 Liter fassenden Rundkolben beschickte ich mit je 3 Litern Eisessig und 1—2 cm^3 gesättigter Kochsalzlösung und erhitzte im Wasserbad auf 90°. Dann ließ ich unter stetem Umschwenken des Kolbens je $^3/_4$ Liter des so vorbereiteten Blutes in dünnem Strahl hinzufließen. Dabei war zu beachten, daß das Blut die Glaswandungen nicht berührte, weil all dieses anhaftende Material sich der Verarbeitung entzieht. Mit Hilfe einer mit Ausguß versehenen Porzellanmensur ließ sich dies leicht bewerkstelligen. Nach dem Eintragen des Blutes nahm die Flüssigkeit sofort eine schwarzbraune Farbe an, ohne sich im geringsten zusammenzuballen. Die Kolben ließ ich jetzt

[1]) Berichte 18. 232.
[2]) Zeitschrift f. physiol. Chemie 30. 390.
[3]) Ebenda 40. 398.

noch 10 Minuten im Wasserbad und goß dann den Inhalt in Porzellanschalen, die ich bei Zimmertemperatur 3 Tage stehen ließ. Nach dieser Zeit hatten sich bei ruhigem Stehen die Häminkristalle so vollständig abgesetzt, daß ich weitaus den größten Teil der Eiweiß-Eisessiglösung abgießen konnte. Die Schalen füllte ich nun unter Umrühren mit 50%iger Essigsäure auf, ließ wieder absitzen und wiederholte dieses Auswaschen durch Dekantieren noch mit salzsäurehaltigem und zuletzt mit destilliertem Wasser. Schließlich brachte ich den Häminbrei auf ein gehärtetes Filter und wusch zuerst mit verdünnterem, dann mit stärkerem Alkohol nach. Nach dem Ablaufen des Alkohols preßte ich den Filtrierrückstand zuerst zwischen Filtrierpapier ab, trocknete ihn dann im Vakuum und zuletzt im Trockenschrank bei 100° bis zur Gewichtskonstanz.

Zum Umkristallisieren löste ich je 6,0 frisch dargestelltes Rohhämin bei Zimmertemperatur in 18 cm^3 Pyridin und 30 cm^3 Chloroform auf. Die Lösung erfolgt sehr rasch und vollständig, wenn man das Umkristallisieren gleich nach der Darstellung des Rohhämins vornimmt. Ältere Häminpräparate lösen sich bedeutend langsamer und schwieriger auf und erfordern auch mehr Pyridin-Chloroform zur Lösung. Die so erhaltene Lösung filtrierte ich durch ein Kreppfilterchen, wobei das Eiweiß zurückblieb, spülte mit einer Mischung von 1 cm^3 Pyridin und 15 cm^3 Chloroform nach und goß die vereinigten Lösungen in dünnem Strahl und unter fortwährendem Umrühren in eine Porzellanschale ein, die eine auf 105° erhitzte Mischung von 840 cm^3 Eisessig, 5 cm^3 25%iger Salzsäure und 6 cm^3 gesättigter Kochsalzlösung enthielt. Unter heftigem Sieden entweicht hiebei der größte Teil des Chloroforms. Nach zweitägigem, ruhigem Stehen hatte sich das Hämin in großen, reinen Kristallen am Boden der Schale abgesetzt und ließ sich durch vorsichtiges Abgießen der

Mutterlauge gewinnen. Diese Mutterlauge konnte ich noch zweimal zum Umkristallisieren von je 6,0 Hämin verwenden. Den so erhaltenen Häminbrei brachte ich auf ein gehärtetes Filter, wusch ihn mit salzsäurehaltigem Wasser pyridinfrei und dann mit destilliertem Wasser chlorfrei; preßte ihn zwischen Filtrierpapier ab, trocknete zuerst im Vakuum und schließlich im Trockenschrank bei 100°.

Aus 15 Liter Ochsenblut erhielt ich 80,0 Rohhämin und 65,0 umkristallisiertes Hämin, also 5,33 resp. 4,33 pro Liter Blut.

Bei einer zweiten Darstellung aus 14 Liter Ochsenblut erhielt ich 61,8 Rohhämin, das aber schon so rein war (wie ein Versuch mit 6,0 zeigte), daß ich es nicht umzukristallisieren brauchte. Die Kristalle waren bei diesem Präparat besonders groß und schön ausgebildet. Die Ausbeute betrug also 4,41 reines Hämin pro Liter Blut.

Bei einer dritten Darstellung ließ ich 10 Liter Pferdeblut absitzen, goß das Serum ab und verwendete von den bleibenden 7 Litern Blutkörperchen je $^3/_4$ Liter auf 3 Liter Eisessig. Hiebei bildete jedoch das Blut nach dem Eingießen in den Eisessig Klumpen, die sich nicht mehr lösten und infolgedessen war die Ausbeute schlecht. Bei dieser Art des Arbeitens hätten die 7 Liter Blutkörperchen vor dem Eintragen in den Eisessig noch mit 3 Liter Wasser verdünnt werden sollen. Ich gewann so 30,0 Rohhämin und daraus 20,0 umkristallisiertes Hämin, also 3,0 resp. 2,0 pro Liter Blut.

Die Analyse des vereinigten umkristallisierten Präparates ergab folgende Werte:

I. 0,1360 Subst. 0,3125 CO_2 0,0620 H_2O 0,0169 Fe_2O_3
II. 0,1467 „ 0,3367 CO_2 0,0653 H_2O 0,0182 Fe_2O_3
III. 0,1756 „ 13,7 cm^3 N (14° 732 mm, Dumas)
IV. 0,1013 „ 0,0225 AgCl (Carius)

Diese Werte stimmen auf die Formel $C_{34}H_{32}O_4N_4FeCl$.

Berechnet für $C_{34}H_{32}O_4N_4FeCl$	Gefunden			
	I.	II.	III.	IV.
%	%	%	%	%
C: 62,63	62,59	62,67	—	—
H: 4,91	5,07	4,95	—	—
N: 8,59	—	—	8,83	—
Cl: 5,45	—	—	—	5,49
Fe: 8,59	8,7	8,68	—	—

b) Darstellung von Hämatoporphyrin.

(Nach Nencki-Zaleski.[4])

In ein weithalsiges, 100 cm³ fassendes Glasstopfenglas, brachte ich 100,0 bei 10° mit Bromwasserstoff gesättigten Eisessig (Kahlbaum, Berlin). Auf diesen streute ich 5,0 frisch umkristallisiertes Azethämin in Portionen von etwa einem halben Gramm. Vor jedem weiteren Substanzzusatz ließ ich unter öfterem, kräftigen Umschütteln solange bei Zimmertemperatur stehen, bis alles in Lösung gegangen war. Nach etwa 4—5 Tagen war alles Hämin mit tiefroter Farbe in Lösung gegangen. Bei der ganzen Operation ist darauf zu achten, daß die Luftfeuchtigkeit möglichst ausgeschlossen wird. Ich verarbeitete jedesmal 5—10 Portionen nebeneinander.

Hatte sich nun alles Hämin gelöst, so filtrierte ich die einzelnen Portionen durch Glaswolle, wusch die Gläser und den Trichter mit etwas Eisessig nach und goß die vereinigte, an der Luft stark rauchende Lösung unter Umrühren in die fünffache Menge Wasser. Auf dem Trichter blieb immer nur ein sehr geringer, unlöslicher Rückstand. Beim Eingießen in Wasser entstand zuerst ein dicker, violetter Niederschlag von bromwasserstoffsaurem Hämatoporphyrin, der sich aber sofort wieder löste. Nach 5stündigem Stehen filtrierte ich die tiefrot gefärbte Lösung, wobei nur ein geringer

[4]) Zeitschrift f. physiol. Chemie 30. 423.

Rückstand, das „Nebenprodukt“,[5]) auf dem Filter zurückblieb.

Verwendet man aber bei der Darstellung offene Gefäße, so daß der Wasserdampf der Luft auf die eisessigbromwasserstoffsaure Flüssigkeit einwirken kann, oder erhitzt man diese, so entsteht mehr Nebenprodukt und die Ausbeute an Hämatoporphyrin geht zurück.

Die klare Lösung versetzte ich nun mit Natronlauge bis zur schwach essigsauren Reaktion, wobei der in verdünnter Essigsäure unlösliche Farbstoff vollständig ausfiel. Ich ließ nun absitzen und wusch, zuerst durch Dekantieren, nachher auf dem Filter bromfrei. Den Niederschlag trocknete ich zwischen Filtrierpapier ab, löste ihn, noch etwas feucht, mit Hilfe von Na_2HPO_4 auf und filtrierte. Hiebei blieb auf dem Filter ein Rückstand von Ferriphosphat. Auf Zusatz von Phosphorsäure zu der klaren, tiefrot gefärbten Lösung fiel der Farbstoff vollständig aus, worauf er, zuerst durch Dekantieren, dann auf dem Filter, phosphorsäurefrei gewaschen wurde. Ich trocknete ihn nun zuerst zwischen Filtrierpapier, dann im Vakuum über Schwefelsäure und schließlich bei 100° im Trockenschrank.

Ich erhielt bei dieser Arbeitsweise einmal aus 20,0 umkristallisiertem Hämin 18,0 Hämatoporphyrin, das anderemal aus 65,0 Hämin 56,0 g. Das sind Ausbeuten von 90% resp. 86,2%, während sich theoretisch 91,5% berechnen.

Bei der Analyse erhielt ich Werte, welche besser auf eine Formel mit 36 Wasserstoffatomen als auf die gewöhnlich bevorzugte mit 38 stimmen.

0,1654 Subst. 0,4159 CO_2 0,0915 H_2O
0,1738 „ 14,9 cm^3 N (19° 736 mm, Dumas)
$C_{34}H_{38}O_6N_4$ Ber. C 68,23% H 6,35% N 9,4 %
$C_{34}H_{36}O_6N_4$ „ „ 68,46 „ „ 6,04 „ „ 9,39 „
Gef. „ 68,6 „ „ 6,15 „ „ 9,5 „

[5]) Zeitschrift für physiol. Chemie 28. 38.

2. Anhydrohämatoporphyrin,

entstanden durch Einwirkung von Azeton auf Hämatoporphyrin.

Zur Bestimmung der Löslichkeitsverhältnisse des Hämatoporphyrins in Azeton schüttelte ich 1,0 fein gepulvertes Hämatoporphyrin 1 Stunde lang auf der Maschine mit 20 cm^3 reinstem Azeton (aus der Bisulfitverbindung). Dann filtrierte ich rasch durch ein kleines Filter in ein mit Stopfen gewogenes Erlmayerkölbchen, verkorkte dieses sofort und wog wieder. Dann ließ ich das Lösungsmittel bei gewöhnlicher Temperatur im Vakuum verdunsten, trocknete bei 100° und wog. Es hatten sich hiebei folgende Zahlen ergeben:

Kölbchen + Hp.lösung	40,0470
Kölbchen, leer	25,4682
Somit Hp.lösung	14,5788
Kölbchen + Hp. bei 100° getrocknet	26,2350
Kölbchen, leer	25,4682
Also Hp.	0,7668
und Azeton	13,7280

Das spez. Gewicht des Azetons ist bei 15° 0,8008. Es hatten sich also bei 15° 0,7668 Hämatoporphyrin in 13,7280 Azeton gelöst, das entspricht einer Löslichkeit von 4,44 Hämatoporphyrin in 100 cm^3 Azeton.

Um sicher zu sein, daß mein Hämatoporphyrin einen einheitlichen Körper darstelle, benützte ich dieses günstige Löslichkeitsverhältnis dem Azeton gegenüber zur Reinigung. Ich verfuhr folgendermaßen:

Den aus 20,0 Hämin erhaltenen Brei von Hämatoporphyrin trocknete ich nur zwischen Lagen Filtrierpapier ab, brachte die Masse mit 1 Liter Azeton auf die Schüttelmaschine und ließ 1 Stunde lang schütteln. Dann filtrierte ich und behandelte den Rückstand wieder auf die gleiche Weise bis zur fast vollkommenen Lösung.

Den zuerst gelösten Teil brachte ich in einem Becherglas in den Vakuumexsikkator und saugte einen Teil des Azetons ab. Dadurch entstand ein Ausfall von Farbstoff, der durch Abnutschen getrennt werden konnte. (Präparat I.)

Das Filtrat davon goß ich unter Umrühren in Wasser, wodurch sämtlicher Farbstoff gefällt wurde und abfiltriert werden konnte. (Präparat II.)

Einen Teil von Präparat II behandelte ich dann nochmals mit Azeton und fällte den darin leicht löslichen Teil durch Eingießen in Wasser aus. (Präp. IIb.)

Die so erhaltenen Präparate waren dunkelblauviolett gefärbt und zeigten kompaktes, körniges Aussehen. Sie ließen sich leicht filtrieren und auswaschen.

Die erst beim zweiten Schütteln mit Azeton in Lösung gegangenen Anteile fällte ich ebenfalls durch Eingießen in Wasser aus. (Präp. III.) Dieser Niederschlag war jedoch voluminöser und heller rot gefärbt als die vorhergehenden Präparate.

Die so erhaltenen Präparate trocknete ich alle zuerst im Vakuum und dann im Trockenschrank bei 100°.

Auf diese Weise reinigte ich 75,0 Hämatoporphyrin und gewann daraus 72,0 wieder zurück.

Der zurückbleibende, in Azeton unlösliche Körper war von rein brauner Farbe und frei von Eisen. Er löste sich leicht in Bikarbonat mit brauner Farbe, teilweise in Pyridin und Pyridin-Chloroform und langsam in starker Salzsäure mit roter Farbe und einem deutlichen Stich ins Grüne. Er erwies sich als unlöslich in Alkohol, Amylalkohol, Äther, Essigäther, Chloroform, Xylol und Tetrachlorkohlenstoff.

Die Analysen der Präparate, die bei 110° bis zum konstanten Gewicht getrocknet waren, ergaben folgende Werte:

I. 0,1478 Subst. 0,3802 CO_2 0,0780 H_2O, Spuren Asche
II. 0,1363 „ 0,3517 CO_2 0,0715 H_2O, keine Asche
0,0880 „ 8,0 cm^3 N (23° 740,5 mm, Dumas)
a) 0,1690 „ 0,4350 CO_2 0,0920 H_2O, keine Asche
b) 0,1236 „ 0,3192 CO_2 0,0676 H_2O, keine Asche
0,1184 „ 10,6 cm^3 N (26° 743 mm, Dumas)

		%	%	%
$C_{34}H_{38}O_6N_4$	Ber.	C 68,23	H 6,35	N 9,4
$C_{34}H_{36}O_6N_4$	„	„ 68,46	„ 6,04	„ 9,39
$C_{34}H_{36}O_5N_4$	„	„ 70,34	„ 6,2	„ 9.65
$C_{34}H_{34}O_5N_4$	„	„ 70,59	„ 5,9	„ 9,69
	I. Gef.	„ 70,15	„ 5,87	„ —
	II. „	„ 70,37	„ 5,83	„ 9,97
	a) „	„ 70,2	„ 6,05	„ —
	b) „	„ 70,43	„ 6,08	„ 9,7
	III. „	„ 70,48	„ 6,44	„ —

Ein Teil des mit Hilfe von Phosphorsäure gefällten Hämatoporphyrins, welches wie schon oben erwähnt bei der Analyse

C 68,63 % H 6,15 % N 9,5 %

also auf die Formel $C_{34}H_{36}O_6N_4$ stimmende Werte ergeben hatte, behandelte ich mit Azeton, fällte durch Eingießen in Wasser und trocknete den Niederschlag. Dieses bei 110° zur Gewichtskonstanz gebrachte Präparat IV ergab bei der Analyse folgende Werte:

IV. 0,1662 Subst. 0,4282 CO_2 0,0942 H_2O
0,1598 „ 0,4074 „ 0,0858 „
Gef. C 70,3 % H 6,3 %
„ „ 69,7 „ „ 5,95 „

Von diesem Präparat IV löste ich einen Teil in Bikarbonat, fällte den Farbstoff mit Essigsäure aus und trocknete. Dieses Präparat V ergab folgende Werte:

V. 0,1555 Subst. 0,3990 CO_2 0,0850 H_2O
0,1132 „ 0,2790 „ 0,0510 „
Gef. C 69,98 % H 6,07 %
„ „ 70,22 „ „ 6.01 „

Vorliegende Analysen lassen keinen Zweifel darüber, daß bei der Behandlung von Hämatoporphyrin mit Azeton ein Molekül Wasser austritt und ein intra-

molekularer Äther entsteht. Hiebei werden aber weder die sauren noch die basischen Eigenschaften des Hämatoporphyrins verändert.

Daß es zwei alkoholische Hydroxylgruppen sind, die hier bei dem Austritt von Wasser reagiert haben, bewiesen die mit Hilfe von Dimethylsulfat in schwach alkalischer Lösung unternommenen Methylierungsversuche an Hämatoporphyrin und Anhydrohämatoporphyrin. Bei ersterem tritt Bildung eines Dimethyläthers ein, bei letzterem dagegen nicht.

3. Salze des Hämatoporphyrins.

a) Das Natriumsalz.

Nencki[6]) hatte das Natriumsalz kristallinisch dargestellt. Das Salz hatte sich nach dem Auflösen des Farbstoffs in warmer, verdünnter Natronlauge beim Erkalten in Form kugeliger Aggregate an den Gefäßwänden abgesetzt. Bei der Analyse hatte Nencki als Resultat ermittelt, daß das Molekül zwei Atome Metall enthält.

Ich versuchte nun mittels Dialyse den Natriumgehalt zu ermitteln. Braucht ein Molekül Hämatoporphyrin zwei Moleküle Natriumhydroxyd zur Sättigung, so sind zur Lösung von 1,0 Farbstoff 34,48 cm^3 Zehntelnormalnatronlauge nötig.

Ich löste daher 1,0090, durch Lösen in Azeton gereinigtes Anhydrohämatoporphyrin, das bei 110° getrocknet war, in 50 cm^3 $\frac{n}{10}$ NaOH auf, worin es ohne Rückstand löslich war, und füllte mit Wasser auf 300 cm^3 auf. Die klare, filtrierte, rote Lösung füllte ich in einen Dialysator und wechselte das 300 cm^3 betragende Außenwasser alle 24 Stunden gegen frisches aus. Nach neunmaligem Wechsel enthielt das Außen-

[6]) Archiv f. exp. Path. und Pharm. 24. 432 ff.

wasser etwas Farbstoff, den ich mit 5 Tropfen Essigsäure fällte. Er betrug 0,0368. Das im Außenwasser befindliche Natrium bestimmte ich als Sulfat und erhielt dabei 0,1626 Na_2SO_4 entsprechend 0,05275 Na. Den 0,0368 Farbstoff entsprachen 0,00272 Na. Es waren also von den 50 cm³ $\frac{n}{10}$ Na OH entsprechend 0,115 Na ins Außenwasser getreten 0,05275 Na.

Die im Dialysator verbliebene Lösung von Hämatoporphyrinnatrium erwärmte ich auf 60°, versetzte sie mit einer ebenso erwärmten Lösung von 0,8 Silbernitrat in 100 cm³ Wasser, filtrierte vom ausgefallenen Silbersalz ab und wusch dieses bis zum Verschwinden der Silberreaktion aus. Das Filtrat befreite ich mittels Salzsäure vom Silber und bestimmte das Natrium als Chlorid. Ich erhielt 0,2079 NaCl. Es waren also an 0,9722 Hämatoporphyrin 0,0819 Natrium gebunden.

$C_{34}H_{35}O_5N_4Na$	Ber.	3,8 % Na
$C_{34}H_{34}O_5N_4Na_2$	„	7,4 „ „
$C_{34}H_{33}O_5N_4Na_3$	„	10,7 „ „
	Gef.	8,4 „ „

Ich hatte bei dieser Methode 1 % Metall zu viel gefunden, was auf das Arbeiten mit solch großen Flüssigkeitsmengen und auf Farbstoffverlust zurückgeführt werden darf. Jedenfalls ist aber aus dem Resultat ersichtlich, daß das Hämatoporphyrin ein Natriumsalz mit zwei Metallatomen im Molekül bildet.

b) Kaliumsalz.

0,5 Anhydrohämatoporphyrin löste ich in 30 cm³ siedendem Amylalkohol. Bei Eintritt von zwei Atomen Kalium ins Molekül wären zur Bildung des Salzes 3,448 cm³ $\frac{n}{2}$ KOH nötig gewesen. Um keinen Überschuß von Alkali zu erhalten, schüttelte ich die alkoholische Lösung mit 3 cm³ $\frac{n}{2}$ KOH im Scheidetrichter kräftig durch. Das sofort entstandene Kaliumsalz setzte sich

hiebei in braunroten, dunklen Flocken an den Wänden ab, während der Amylalkohol durch den geringen Überschuß des freien Hämatoporphyrins noch hellrot gefärbt war. Ich ließ nun den Amylalkohol ablaufen und wusch das Salz einige Male mit je 5 cm^3 des Lösungsmittels nach, bis dieses farblos blieb. Das so erhaltene Kaliumsalz war amorph und zeigte keinerlei kristallinische Struktur. Bei einem Versuch, das Salz in kristallinischer Form zu erhalten, zeigte es sich, daß es in Wasser äußerst leicht löslich war und auch bei längerem Stehen im Vakuum nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte.

Deshalb gab ich 10 cm^3 Wasser zu, worin sich das Salz sofort zu einer undurchsichtigen, schwarzroten Flüssigkeit löste. Ich schüttelte diese Lösung nochmals mit dem gleichen Volumen Amylalkohol aus, der keinen Farbstoff mehr aufnahm, dann einigemale mit Äther, um den Alkohol vollständig zu entfernen, und erwärmte schließlich gelinde, um den Äther zu verjagen. Die so vorbereitete Lösung benützte ich zur Darstellung des Silbersalzes (Seite 28. 2).

c) Ammoniumsalz.

Von der bisherigen normalen Zusammensetzung abweichend waren die Verhältnisse beim Ammoniumsalz. Zur Darstellung benützte ich Hämatoporphyrin, das nicht der Behandlung mit Azeton unterworfen worden war.

1. 0,1621 Hämatoporphyrin löste ich in 20 cm^3 $\frac{n}{10}$ NH_3 auf, filtrierte, wobei kein unlöslicher Rückstand blieb, und spülte die schön rote Lösung quantitativ in eine flache Glasschale. Neben diese stellte ich eine zweite Schale, welche 20 cm^3 $\frac{n}{10}$ SO_4H_2 enthielt und schloß beide mittels einer Glasglocke luftdicht nach außen hin ab. Nach sechstägigem Stehen bei gewöhn-

licher Temperatur nahm ich die Glocke weg, spülte die anhaftenden Wasserdampfperlen samt der Schwefelsäure in ein Becherglas und titrierte mit $\frac{n}{10}$ KOH zurück (Indikator Methylorange). Dazu waren 8,7 cm³ nötig. Es waren also in der Farbstofflösung an 0,1621 Hämatoporphyrin 8,7 cm³ $\frac{n}{10}$ NH_3 gebunden. Für dieselbe Farbstoffmenge findet sich für die Formel

$C_{34}H_{36}O_6N_4(NH_4)_2$	Ber.	5,4 cm³ $\frac{n}{10}$ NH_3
$C_{34}H_{35}O_6N_4(NH_4)_3$	„	8,1 „ „ „
	Gef.	8,7 „ „ „

2. 0,2564 Hämatoporphyrin, das bei 110° getrocknet war, löste ich in 30 cm³ $\frac{n}{10}$ NH_3 in der Kälte auf und filtrierte. Es blieb hiebei ein geringer Rückstand, den ich mit heißer, verdünnter Natronlauge restlos in Lösung brachte. Durch Ansäuern der Lösung mit Essigsäure fiel der Farbstoff aus und konnte nach dem Trocknen zur Wägung gebracht werden. Es waren dies 0,0287 Farbstoff und es befanden sich also in der ammoniakalischen Lösung 0,2277. Diese Lösung spülte ich quantitativ in einen Fraktionskolben, verband diesen so mit einer Vorlage, die 40 cm³ $\frac{n}{10}$ SO_4H_2 enthielt, daß das Rohr unter dem Flüssigkeitsspiegel endigte. Das ganze schloß ich an die Luftpumpe an und evakuierte vorsichtig, so daß das Gemisch von Luft (die durch eine Kapillare in den Fraktionskolben eintrat) und Ammoniakgas in langsamem Strom durch die Säure durchgesaugt wurde. Nach etwa einer halben Stunde erwärmte ich im Wasserbad und destillierte etwa eine Stunde lang bei 37° unter vermindertem Druck ab. Den in den Fraktionskolben eintretenden Luftstrom ließ ich vorher durch zwei Waschflaschen mit Schwefelsäure respektive Natronlauge passieren, um Ammoniak und Kohlensäure fernzuhalten. Den Inhalt der Vorlage titrierte ich dann unter Anwendung von Methylorange

mit $\frac{n}{10}$ KOH zurück, Verbrauch 22 cm³, wobei es sich also zeigte, daß 18 cm³ $\frac{n}{10}$ NH_3 überdestilliert waren. Die 0,2277 Hämatoporphyrin erforderten demnach 12 cm³ $\frac{n}{10}$ NH_3 zur Lösung, und es berechnet sich für die Formel:

$C_{34}H_{36}O_6N_4(NH_4)_3$ Ber. 11,5 cm³ $\frac{n}{10}$ NH_3
Gef. 12,0 „ „ „

Beide Versuche geben also das merkwürdige Resultat, daß in ein Molekül drei Ammoniumgruppen eingetreten waren, während bei andern Salzen stets zwei Atome Metall eintraten. Diese Abnormität läßt sich vielleicht mit dem ungesättigten Charakter des NH_3 erklären.

Die auf diese Weise erhaltenen Ammoniumsalzlösungen benutzte ich, wie im folgenden beschrieben, zur Darstellung des Silbersalzes. Dieses bildete sich jedoch wieder ganz normal und besaß zwei Atome Metall im Molekül.

d) Silbersalz.

1. Die bei der oben beschriebenen Dialyse erhaltene Lösung des Hämatoporphyrin-Natriumsalzes (S. 23a) brachte ich durch Verdünnen mit Wasser auf 500 cm³, erwärmte sie auf 60° und goß dazu eine ebenso erwärmte Lösung von 0,8 $AgNO_3$ in 100 cm³ Wasser. Der entstandene dunkelbraunviolette Niederschlag setzte sich gut ab und wurde mit heißem Wasser Cl'frei gewaschen. Er betrug nach dem Trocknen, zuerst im Vakuum, dann bei 105°, 1,17 g, die ich aus 1,0 Hämatoporphyrin erhalten hatte.

Analyse.

0,1544 Subst. 0,2998 CO_2 0,0647 H_2O 0,0393 Ag
$C_{34}H_{36}O_6N_4Ag_2$ Ber. C 50,25 % H 4,4 % Ag 26,6 %
Gef. „ 52,8 „ „ 4,65 „ „ 25,45 „

2. Die wie Seite 24b beschriebene, aus 0,5 Hämatoporphyrin hergestellte Kaliumsalzlösung verdünnte ich mit 100 cm^3 Wasser, erhitzte auf dem Wasserbad und fällte heiß mit Silbernitratlösung. Den braunen Niederschlag trocknete ich nach dem Auswaschen erst im Vakuum, dann bei 110°. Die Ausbeute betrug 0,6 Silbersalz.

Analyse.

0,1428 Subst.	0,2754 CO_2		0,0589 H_2O		0,0369 Ag	
$C_{34}H_{36}O_6N_4Ag_2$	Ber. C	50,25 %	H	4,4 %	Ag	26,6 %
	Gef. „	52,5 „	„	4,58 „	„	25,8 „

3. Die bei der Darstellung des Ammoniumsalzes 1. (S. 25) erhaltene klare, rote Lösung stellte ich drei Tage lang neben konzentrierter Schwefelsäure unter eine Glasglocke. Auch nach dieser Zeit war die Lösung noch vollständig klar und es hatte sich nichts abgeschieden, ein Zeichen, daß das Ammoniumsalz sich nicht verändert hatte. Ich verdünnte nun mit Wasser zu 50 cm^3, versetzte mit einer kalten Lösung von 0,2 Ag_2SO_4 in 25 cm^3 Wasser und ließ über Nacht stehen. Am andern Tag filtrierte ich den grünschwarz erscheinenden Niederschlag durch ein schwarzes Filter, wobei das Filtrat vollkommen farblos ablief, und wusch mit kaltem Wasser Ag-frei. Der im Vakuum, dann bei 110° getrocknete Niederschlag zeigte jetzt dunkelviolette Färbung. Ausbeute 0,1658. Die Operationen wurden alle bei möglichst vollständigem Abschluß von Tageslicht ausgeführt.

Analyse.

0,1621 Subst.	0,3059 CO_2		0,0609 H_2O		0,0433 Ag	
$C_{34}H_{36}O_6N_4Ag_2$	Ber. C	50,25 %	H	4,4 %	Ag	26,6 %
	Gef. „	50,31 „	„	4,1 „	„	26,1 „

4. Die bei der Darstellung des Ammoniumsalzes 2. (S. 26) im Kolben verbliebene Farbstofflösung spülte ich in ein Becherglas und füllte mit Wasser auf 100 cm^3 auf. Die Lösung reagierte gegen Lakmus neutral und

zeigte auch keinen Ammoniakgeruch. Zu dieser Lösung goß ich 25 cm^3 1%iger Silbernitratlösung ohne zu erwärmen und filtrierte von dem entstandenen Niederschlag ab. Das Filtrat war farblos. Nach dem Ag-freiwaschen trocknete ich das Salz zuerst im Vakuum, dann im Trockenschrank bei 110°.

Analyse.

0,1952 Subst. 0,0683 AgCl (Carius)
$C_{34}H_{36}O_6N_4Ag_2$ Ber. 26,6 % Ag
Gef. 26,4 „ „

Die Analysen dieser auf so verschiedenen Wegen hergestellten Silbersalze lassen keinen Zweifel darüber, daß bei allen Bedingungen stets zwei Atome Metall ins Molekül Hämatoporphyrin eintraten, selbst in dem Ausnahmefall des Ammoniumsalzes, wo man den Eintritt von drei Atomen Metall schließlich hätte erwarten können.

e) Zinksalz.

1. 1,0 Anhydrohämatoporphyrin löste ich in 130 cm^3 siedendem Amylalkohol auf und schüttelte die Lösung im Scheidetrichter mit 3 cm^3 $\frac{n}{1}$ KOH und 30 cm^3 Wasser aus. Das sich zuerst an den Wänden absetzende Kaliumsalz löste sich vollständig im Wasser auf. Durch Ausschütteln mit Äther, dann mit Chloroform, ließ sich die wässrige Lösung vom Alkohol, durch nachheriges gelindes Erwärmen von diesem befreien. Nach dem Erkalten verdünnte ich mit Wasser auf 100 cm^3 und gab Zinkazetatlösung zu, worauf ein Niederschlag entstand, den ich auswusch und trocknete. Ich erhielt 0,8 Zinksalz.

Analyse.

0,1862 Subst. 0,4208 CO_2 0,0835 H_2O 0,0271 ZnO
$C_{34}H_{34}O_5N_4Zn$ Ber. C 63,4 % H 5,6 % Zn 10,1 %
Gef. „ 61,6 „ „ 4,98 „ „ 11,6 „

2. 2,35 Hämatoporphyrinreste löste ich in 8 cm^3 $\frac{n}{1}$ KOH auf, verdünnte mit 100 cm^3 Wasser und fällte

die auf dem Wasserbad erwärmte Lösung mit verdünnter Zinkazetatlösung. Der ausgewaschene und getrocknete Niederschlag wog 2,3.

Analyse.

0,1700 Subst. 0,3825 CO_2 0,0770 H_2O 0,0295 Asche
$C_{34}H_{36}O_6N_4Zn$ Ber. C 61,7 % H 5,44 % Zn 9,83 %
Gef. „ 61,36 „ „ 5,03 „ „ 13,9 „

Das zur Verwendung gelangte Hämatoporphyrin war nicht rein gewesen und die Asche bei der Verbrennung wies noch einen Eisengehalt auf; daher der hohe Zinkgehalt bei der Berechnung. Zur Entfernung des Eisens digerierte ich das Zinksalz längere Zeit auf dem Wasserbade mit 2%iger Schwefelsäure. Im Filtrat ließ sich dann auch mit Ammoniak Eisen nachweisen. Das SO_4H_2frei gewaschene Präparat gab jetzt folgende Werte:

Analyse.

0,1625 Subst. 0,0203 ZnO
$C_{34}H_{36}O_6N_4Zn$ Ber. Zn 9,83 %
Gef. „ 10,03 „

Aus dem Metallgehalt aller dieser Salze ist zu ersehen, daß das Hämatoporphyrin eine zweibasische Säure ist und daß zwei Atome Wasserstoff im Molekül durch Metall ersetzbar sind.

4. Veresterung von Hämatoporphyrin mit Alkohol und Salzsäure.

a) Dimethylester.

1. 5,0 Anhydrohämatoporphyrin, das bei einem Methylierungsversuch mittels Dimethylsulfat in alkalischer Lösung nur 0,3% Methyl aufgenommen hatte, löste ich in 250 cm^3 1% Chlorwasserstoff enthaltendem Methylalkohol auf, erhitzte die rotviolette Lösung 10 Minuten lang auf dem Wasserbad am Rückflußkühler und goß dann die Lösung in 2 Liter Wasser,

das etwas Natriumazetat enthielt. Es fiel ein hellroter Niederschlag aus, den ich absaugte, Cl-frei wusch und im Vakuum trocknete. Die Ausbeute betrug 5,2.

Der erhaltene Ester war ein ziegelrotes, leichtes und sehr voluminöses Pulver. Es schmolz bei 140—141°. Es war in Karbonaten, auch beim Erwärmen, unlöslich. Beim Kochen mit starker Lauge ging es langsam mit roter Farbe in Lösung, das heißt, es trat Verseifung ein. Löslich war es in Methylalkohol, Äther und in verdünnter Salzsäure.

Analyse.

0,1367 Subst.	0,3564 CO_2	0,0852 H_2O				
0,2532 „	0,1692 Ag J (Zeisel)					
$C_{34}H_{34}O_5N_4(CH_3)_2$	Ber.	C 71,05 %	H 6,58 %	(CH_3)	4,9 %	
	Gef.	„ 71,1 „	„ 6,93 „	„	4,3 „	

2. Bei einer andern Darstellung erhitzte ich 1,5 Hämatoporphyrin mit 75 cm³ 1% Chlorwasserstoff haltendem Methylalkohol 10 Minuten lang auf dem Wasserbad am Rückflußkühler. Das Reaktionsgemisch goß ich in ein Liter Wasser, wobei ein Niederschlag entstand. Da dieser sich schlecht filtrieren ließ, gab ich noch etwas Natriumazetat hinzu, worauf er sich schön absetzte. Die Ausbeute betrug 1,4.

Der erhaltene Ester besaß dasselbe Aussehen und die gleichen Eigenschaften wie der eben beschriebene. Er löste sich in kalter methylalkoholischer Kalilauge, was aber sicher nur dem Alkohol und nicht dem Alkali zuzuschreiben war. Im Kapillarröhrchen erhitzt, schmolz er bei 140—142°. Bei höherem Erhitzen trat Gasentwicklung ein.

Analyse.

0,1903 Subst. = 0,1447 Ag J (Zeisel) = 4,85 % CH_3

Ich versuchte nun das salzsaure Salz des Esters herzustellen. Zu diesem Zweck extrahierte ich 1,0 des Esters in einem kleinen Soxhletschen Apparate mit Äther. Die schön rot gefärbte Lösung schüttelte ich

dann mit 5%iger Salzsäure aus, welche allen Farbstoff aus dem Äther wegnahm. Diese saure Lösung ließ ich dann einige Tage im Vakuum neben Schwefelsäure stehen. Nach dieser Zeit hatten sich schöne, rote Kristallnadeln ausgeschieden, die ich absaugte, mit wenig starker Salzsäure wusch und auf Ton gestrichen neben Kalk im Vakuum trocknete.

Bei einer Methoxylbestimmung nach Zeisel mit 0,1405 Substanz erhielt ich keine Spur Jodsilber.

0,1120 Subst. 0,0503 AgCl (Carius)
$C_{34}H_{38}O_6N_4$ 2 HCl Ber. 10,71 % Cl
Gef. 11,1 „ „

Der Dimethylester war also durch die Einwirkung der Salzsäure vollständig verseift worden und die ausgeschiedenen Kristalle bestanden nur aus salzsaurem Hämatoporphyrin, wofür einerseits das Fehlen von abgespaltenen Methoxylgruppen, andererseits der für das letztere stimmende Chlorgehalt sprechen.

b) Tetramethylderivat.

Nencki hatte durch 12stündiges Kochen von Hämatoporphyrin mit 5% Salzsäure haltendem Methylalkohol ein Produkt erhalten, das nach seiner einfachen Formel für das Hämatoporphyrin zwei, nach der heute gebräuchlichen, verdoppelten Formel, vier Methyle im Molekül enthielt.

Bei der Wiederholung dieses Versuchs löste ich 1,0 Hämatoporphyrin in 20 cm^3 5% Chlorwasserstoff enthaltendem Methylalkohol auf und erhitzte am Rückflußkühler im Wasserbad, aber nur 6 Stunden. Das tief rotviolette Reaktionsgemisch goß ich in Wasser, dem ich Natriumazetat zugesetzt hatte, filtrierte den entstandenen Niederschlag ab und trocknete ihn im Vakuum. Die Ausbeute betrug 1,2.

Das erhaltene Präparat war ein lockeres, rotbraunes Pulver mit stark elektrischen Eigenschaften.

Beim Zerreiben in der Achatschale befeuchtete ich es deshalb mit etwas Petroläther; dennoch bereitete seine Verarbeitung Schwierigkeiten, weil es zufolge dieser Eigenschaften an jedem mit ihm in Berührung kommenden Gegenstand fest haften blieb. Es war unlöslich in Soda und Kalilauge, ebenso in Petroläther; teilweise löslich in Äther, aus dem sich der lösliche Teil durch 5%ige Salzsäure wieder ausschütteln ließ; leichtlöslich in Methylalkohol und Chloroform. Im Kapillarröhrchen erhitzt, schmolz es bei 80—83°, bei höherem Erhitzen trat Gasentwicklung ein.

Analyse.

0,1840 Subst. 0,2321 AgJ (Zeisel)

$C_{34}H_{34}O_6N_4(CH_3)_4$ Ber. CH_3 9,2%

Gef. „ 8,1 „

Wie Nencki fand auch ich etwa 1% zu wenig Methyl. Ich unterwarf nun dieses Präparat nochmals vier Stunden lang derselben Behandlung mit 5% Chlorwasserstoff haltendem Methylalkohol. Nach dem Ausfällen erhielt ich einen Körper, der in seinem Aussehen und seinen Eigenschaften dem eben beschriebenen glich. Dagegen schmolz er erst bei etwa 86—88° und die Zeiselbestimmung ergab einen geringeren Methylgehalt.

Analyse.

0,1747 Subst. 0,1893 AgJ (Zeisel)

$C_{34}H_{34}O_6N_4(CH_3)_4$ Ber. CH_3 9,2%

Gef. „ 6,9 „

Bei einer weiteren vierstündigen, analogen Behandlung des so gewonnenen Präparates mit Salzsäure-Methylalkohol gelangte ich zu einem Körper, dessen Schmelzpunkt, allerdings unscharf, schon über 90° lag und dessen Methylgehalt noch weiter zurückgegangen war.

Analyse.

0,1575 Subst. 0,1475 AgJ (Zeisel)

$C_{34}H_{34}O_6N_4(CH_3)_4$ Ber. CH_3 9,2 %

$C_{34}H_{36}O_6N_4(CH_3)_2$ „ „ 4,79 „

Gef. „ 5,9 „

Dieser Befund zeigt, daß bei längerem Erhitzen mit Salzsäure-Methylalkohol wieder die umgekehrte Reaktion eintritt und das gebildete Tetramethylderivat, wenigstens teilweise wieder, verseift wird.

Durch längeres Kochen mit alkoholischer Kalilauge ließ sich das Tetramethylderivat vollständig verseifen.

0,5 erhitzte ich mit 20 cm^3 5%iger alkoholischer Kalilauge etwa 4 Stunden lang am Rückflußkühler. Die eine Hälfte goß ich dann in Wasser, fällte mit Essigsäure den Farbstoff aus und trocknete ihn. Der so erhaltene hämatoporphyrinähnliche Körper enthielt nur mehr wenig Methyl und löste sich in kaltem Bikarbonat zum größten Teil auf.

Analyse.

0,1910 Subst. 0,0378 AgJ (Zeisel)
Gef. CH_3 1,26%

Die andere Hälfte ließ ich noch zwei Stunden lang kochen und fällte dann den Farbstoff ebenfalls aus. Dieser enthielt kein Methyl mehr, wie sich bei einer Zeiselbestimmung zeigte, war in Bikarbonat vollständig löslich und zeigte auch sonst alle Eigenschaften des Hämatoporphyrins.

Das auf diese Weise gewonnene Tetramethylderivat unterscheidet sich besonders durch seinen tiefliegenden Schmelzpunkt von dem im folgenden beschriebenen Ätherester, der ebenfalls vier Methyle enthält. Obgleich beide Körper in ihren sonstigen Eigenschaften sehr große Ähnlichkeit aufweisen, ist es doch bei einer solch energischen Behandlung mit Salzsäure-Methylalkohol nicht unmöglich, daß hiebei eine tiefergreifende Einwirkung stattgefunden hat. Nicht unwahrscheinlich ist es auch, daß ich hier ein Isomeres des Ätheresters in Händen hatte.

5. „Zwischenprodukt“,

entstanden bei der Hämatoporphyrinbildung, beim Ersatz des Wassers durch Methylalkohol.

Um einen weiteren Beweis dafür zu erbringen, daß bei der Bildung von Hämatoporphyrin aus Hämin mittels Eisessigbromwasserstoff neben der Eisenabspaltung primär eine Anlagerung von Bromwasserstoff eintritt, und daß dann erst aus diesem Bromadditionsprodukt infolge der Einwirkung des Wassers Brom abgespalten und durch Hydroxyl ersetzt wird, schloß ich das Wasser bei der Darstellung aus und ersetzte es durch Methylalkohol.

Ich ließ also in bekannter Weise auf 6 Portionen zu je 5,0 umkristallisiertes Hämin Eisessig-Bromwasserstoff einwirken und filtrierte die tiefroten Lösungen durch Glaswolle zusammen in einen Fraktionskolben. Dann destillierte ich den Eisessig bei 60° unter vermindertem Druck ab. Es blieb ein schwarzvioletter, metallisch glänzender, zäher Syrup zurück. Diesen erwärmte ich 15 Minuten lang im Wasserbad mit 300 cm^3 Methylalkohol, wobei alles in Lösung ging, und filtrierte die tiefrote Lösung. Dabei blieb nur ein ganz geringer Rückstand auf dem Filter zurück. Das Filtrat versetzte ich mit 100 cm^3 20%iger methylalkoholischer Kalilauge, filtrierte von dem entstandenen Niederschlag, der Kalium, Eisen und Brom enthielt, ab und goß in 2 Liter Wasser. Dabei fiel der Farbstoff vollständig aus, den ich nach dem Auswaschen durch Liegen zwischen Filtrierpapier vom meisten Wasser befreite. Hierauf brachte ich ihn in einen Kolben mit Steigrohr, gab 800 cm^3 Methylalkohol zu und erhitzte 20 Minuten lang zum Sieden. Aus der heiß filtrierten Lösung schieden sich über Nacht an den Wandungen haftende schwarzrot gefärbte Kristalle in großen Drusen ab. Die Ausbeute betrug 2,9 g im Vakuum getrocknet.

Ich versuchte nun durch wiederholtes Abdestillieren von einem Teil des Alkohols im Vakuum noch weitere Ausbeuten an Kristallen zu erhalten. Es setzten sich aber nur Krusten von Farbstoff ab, die wohl kristallinische Struktur zeigten, aber nicht wie die erste Fraktion aus einzelnen Kristallen bestand.

Deshalb löste ich alle Ausscheidungen samt der Mutterlauge in 300 cm^3 siedendem Methylalkohol, filtrierte die Lösung in 500 cm^3 Wasser, gab Essigsäure bis zur schwach sauren Reaktion zu und filtrierte den entstandenen Niederschlag ab. Nach dem Auswaschen und Trocknen im Vakuum hatte ich 17,0 eines sehr voluminösen und leichten, ziegelrot gefärbten amorphen Pulvers, des „Zwischenprodukts", in Händen. Das Präparat schmolz bei etwa 126—128°. Es war vollständig unlöslich in kalten Alkalien. Erst bei anhaltendem Kochen mit starker Kalilauge trat langsam Lösung ein, das heißt Verseifung.

Analyse.

0,1315 Subst. 0,1592 AgJ (Zeisel)
Gef. CH_3 7,7 %

Den Bromgehalt bestimmte ich so, daß ich 0,5 des „Zwischenprodukts" eine Stunde lang auf dem Wasserbade mit 30 cm^3 $\frac{n}{1}$ KOH erhitzte, bis vollkommene Lösung eingetreten war; dann verdünnte ich mit ebensoviel Wasser, filtrierte und fällte die rote Lösung noch heiß mit Essigsäure. Den Niederschlag wusch ich gründlich mit Wasser aus und fällte in dem farblosen Filtrat das Brom mittels Silbernitrat aus.

Analyse.

0,5 Subst. 0,0233 AgBr Gef. 1,98 % Br

Der im Vakuum getrocknete Farbstoff erwies sich bei einer Cariusbestimmung als völlig bromfrei.

Bei einer Methoxylbestimmung gab er folgende Werte:

Analyse.

0,1109 Subst. 0,0688 AgJ (Zeisel)
$C_{34}H_{36}O_6N_4(CH_3)_2$ Ber. CH_3 4,79 %
Gef. „ 4,0 „

Durch diese Verseifung mit Alkali war ich also zu dem in Alkalien leicht löslichen Dimethyläther gelangt, wobei auch das noch anwesende Brom vollständig abgespalten worden war.

a) Tetramethylätherester.

1. Die aus dem „Zwischenprodukt" nach S. 35 erhaltenen Kristalle von Ätherester waren zu Drusen vereinigt. Sie waren von schwarzroter Farbe und in Alkalien selbst bei einstündigem Erwärmen mit $\frac{n}{1}$ KOH im Wasserbad nicht löslich. Sie schmolzen bei 128—129°.

Analyse.

0,1786 Subst. 0,2355 AgJ (Zeisel)
$C_{34}H_{34}O_6N_4(CH_3)_4$ Ber. CH_3 9,2 %
Gef. „ 8,4 „

Bei einer Verbrennung erwiesen sich die erhaltenen Werte von Kohlenstoff und Wasserstoff als nicht ganz auf die Formel stimmend, auch enthielten die Kristalle noch etwas Eisen und Brom.

Analyse.

0,1640 Subst. 0,4054 CO_2 0,0950 H_2O
0,1815 Subst. 0,0055 AgBr Spuren Fe
Ber. $C_{34}H_{34}O_6N_4(CH_3)_4$ C 69,72 % H 7,04 %
Gef. C 67,4 % H 6,4 % Br 1,3 % Fe Spuren

Deshalb verwendete ich bei einer zweiten Darstellung wasserfreien Methylalkohol.

2. Ich unterwarf die bei der Einwirkung von Bromwasserstoffeisessig auf 5,0 Hämin erhaltene schön rote Lösung der Destillation im Vakuum und destillierte bei 70° das Lösungsmittel vollständig ab. Zu dem Rückstand gab ich 100 cm^3 wasserfreien Methylalkohol, erwärmte 10 Minuten lang auf dem Wasserbad und

filtrierte die tiefrote Lösung, wobei nur ein ganz geringer Rückstand blieb. Dazu gab ich dann eine Lösung von 4,0 KOH in 30 cm³ absolutem Methylalkohol, wobei Erwärmung eintrat und ein Niederschlag entstand. Diesen wusch ich mit Methylalkohol aus und goß die alkoholische Lösung in 500 cm³ Wasser. Den hiebei entstandenen Niederschlag trocknete ich im Vakuum und extrahierte ihn dann so lange im Soxhletapparat mit absolutem Methylalkohol, bis dieser nichts mehr löste. Nach dieser Behandlung extrahierte ich den Rest noch mit Äther.

Die methylalkoholische Lösung schied bei sechstägigem ruhigem Stehen 1,8 große, schwarzrot gefärbte Kristalle ab (Fraktion I). Nach weiterem Stehen im Vakuumexsikkator über Chlorkalzium hatten sich nochmals 0,7 Kristalle abgeschieden (Fraktion II). Die Mutterlauge goß ich dann in 300 cm³ Wasser, das etwas Natriumazetat und Essigsäure enthielt. Den ziegelroten Niederschlag wusch ich bromfrei und trocknete ihn im Vakuum (III). Die beim zweiten Extrahieren erhaltene Ätherlösung, die an wässrige Sodalösung nichts abgab, schüttelte ich mit 5%iger Salzsäure aus, goß diese sofort in stark verdünnte Natronlauge und filtrierte den entstandenen Niederschlag ab (IV). Ich erhielt folgende Ausbeuten der einzelnen Fraktionen:

I. und II.	Kristalle, Schmelzpunkt	128—129°	2,5 g
III.	amorph, „	125—126°	1,1 g
IV.	„ „	105°	0,35 g
V.	in Alkohol u. Äther unlöslicher Teil		1,5 g
		Zusammen	5,45 g

Analyse.

Bei der Analyse der Kristalle der Fraktion I ergaben sich folgende Werte:

0,1725 Subst. 0,4393 CO_2 0,1057 H_2O 0,0003 Asche (Fe_2O_3)
0,2660 „ 0,4065 AgJ (Zeisel)
$C_{34}H_{34}O_6N_4(CH_3)_4$ Ber. 69,72% H 7,04% CH_3 9,2 %
Gef. 69,46 „ „ 6,81 „ „ 9,75 „

Ich erhielt demnach beim Arbeiten mit absolutem Methylalkohol und möglichstem Ausschluß von Luftfeuchtigkeit bessere Ausbeuten an kristallisiertem Ätherester. Bei Anwesenheit von Wasser tritt eben sofort Hämatoporphyrinbildung ein. Bemerkenswert ist, daß die Kristalle mit großer Hartnäckigkeit Eisen, wenn auch nur in geringer Menge zurückhalten. Sie waren unlöslich in kaltem Alkali und erst durch anhaltendes Kochen mit starkem Alkali verseifbar; löslich in Benzol, Alkohol, Chloroform und Eisessig. Der bei der zweiten Darstellung erhaltene unlösliche Rückstand (V) war auch in verdünnten Säuren und Alkalien unlöslich. Löslich war er in Chloroform und beim Kochen mit Natronlauge oder 1% Chlorwasserstoff haltendem Methylalkohol.

b) Dimethyläther.

1. 0,5 des „Zwischenprodukts" (S. 36!) löste ich in 60 cm^3 Äther auf, filtrierte von dem 0,02 betragenden, eisenhaltigen Rückstand ab und schüttelte die schön rote Lösung viermal mit je 50 cm^3 5%iger Salzsäure aus, bis letztere aus der Ätherlösung keinen Farbstoff mehr wegnahm. Die Salzsäure sättigte ich mit NaOH beinahe ab und gab Natriumazetat bis zur essigsauren Reaktion zu. Hiebei fiel aller Farbstoff als ziegelroter Niederschlag aus. Diesen wusch ich mit essigsäurehaltigem Wasser Cl-frei und trocknete ihn im Vakuum über Kalk und Schwefelsäure. Die Ausbeute betrug 0,35.

Der Körper war ein lockeres, amorphes Pulver von ziegelroter Farbe; er löste sich leicht in Bikarbonat und zeigte, im Kapillarröhrchen erhitzt, den Schmelzpunkt 105°.

Analyse.

0,1711 Subst. 0,1194 AgJ (Zeisel)
$C_{34}H_{36}O_6N_4(CH_3)_2$ Ber. CH_3 4,79%
Gef. „ 4,45 „

Der im „Zwischenprodukt" enthaltene Ätherester war also durch die Salzsäure bis zum Äther verseift worden, der zwei Methyle enthält und in Alkali leicht löslich ist.

Die nach dem Ausschütteln mit Salzsäure braun gefärbte Ätherlösung hinterließ nach dem freiwilligen Verdunsten 0,07 eisenhaltigen, schwarz gefärbten Farbstoff.

2. 5,0 des „Zwischenprodukts" (S. 36!) löste ich in 200 cm^3 Äther auf und schüttelte diesen mit 500 cm^3 5%iger Salzsäure in Portionen von 50 cm^3 aus. Den darin gelösten Farbstoff fällte ich aus und trocknete im Vakuum. Die Ausbeute betrug 3,1. Der ziegelrote, amorphe und in Alkalien leicht lösliche Körper hatte den Schmelzpunkt 104—105°.

1,0 dieses Präparates löste ich wieder in 60 cm^3 Äther auf, schüttelte viermal mit je 50 cm^3 5%iger Salzsäure aus, fällte den darin aufgenommenen Farbstoff mit Natronlauge und Natriumazetat aus und trocknete ihn im Vakuum. Ich erhielt so 0,9 Dimethyläther vom scharfen Schmelzpunkt 105°, der dieselben Eigenschaften besaß, wie der eben beschriebene.

Analyse.

0,1887 Subst. 0,1463 AgJ (Zeisel)
$C_{34}H_{36}O_6N_4(CH_3)_2$ Ber. CH_3 4,79%
Gef. „ 4,94 „

Der nach der Zeiselbestimmung noch übrige Teil, 0,7, wurde dann nochmals einer gleichen Behandlung unterworfen. Der dabei erhaltene Körper zeigte die gleichen Eigenschaften, wie vorher. Schmelzpunkt 105°.

Analyse.

0,1000 Subst. 0,0775 AgJ (Zeisel)
0,1627 „ 0,4153 CO_2 0,0935 H_2O
$C_{34}H_{36}O_6N_4(CH_3)_2$ Ber. C 69,0% H 6,7% (CH_3) 4,79%
Gef. „ 69,6 „ „ 6,4 „ „ 4,94 „

Es ist also möglich, von dem Ätherester durch Verseifen mit Salzsäure auf bequeme Weise zum Dimethyläther zu gelangen.

Durch Lösen von 0,5 des Äthers in 25 cm³ 1% HCl haltenden Methylalkohol und viertelstündiges Erhitzen der Lösung auf dem Wasserbade, Fällen mit Natriumazetat, Lösen des abfiltrierten Niederschlags in Äther, Ausschütteln der ätherischen Lösung mit Bikarbonat, Trocknen der Lösung mit entwässertem Natriumsulfat und Verdampfen des Äthers wurde das Tetramethylderivat vom Schmelzpunkt 128—130° zurückerhalten.

Salze des Dimethyläthers.

Chlorwasserstoffsaures Salz.

Da es mir trotz verschiedener Versuche nicht gelungen war, den Äther selbst kristallinisch zu erhalten, so versuchte ich, sein salzsaures Salz darzustellen, das ich denn auch in wohlausgebildeten, zinnoberrot gefärbten Kristallen gewinnen konnte. Dieselben sind nur sehr unbeständig. Zwar erhielt ich sie in guter Ausbeute, doch hatte ich immer Verluste, wenn ich sie in analysenreinem Zustand darstellen wollte. Versucht man nämlich, sie nach dem Absaugen von der anhaftenden Mutterlauge und Salzsäure etwa durch Waschen mit Wasser zu befreien, so spalten sie sofort ihren Chlorwasserstoff ab und man erhält amorphen Farbstoff. Auch beim Aufbewahren verlieren sie ihre Kristallform, selbst nach dem sorgfältigsten Trocknen.

0,5 des Dimethyläthers löste ich in 5 cm³ kalter $\frac{n}{1}$-Salzsäure auf, filtrierte durch ein kleines Filterchen, wusch mit 2 cm³ Wasser nach und stellte das Kristallisierschälchen im Vakuum neben konzentrierter Schwefelsäure auf. Nach drei Tagen hatten sich wohlausgebildete Kristalle ausgeschieden, die ich nach dem Abnutschen mit einigen Tropfen starker Salzsäure wusch und auf Ton gestrichen im Vakuum über Kalk trocknete. Die Ausbeute betrug 0,39. Im Kapillarröhrchen erhitzt, zeigten sie keinen Schmelzpunkt.

Zur Chlorbestimmung löste ich 0,1090 Substanz in 100 cm³ Wasser auf unter Zugabe von 5 cm³ $\frac{n}{1}$ NaOH. Aus der roten Lösung fällte ich den Farbstoff mit Essigsäure aus, wusch mit Wasser gut nach und bestimmte im farblosen Filtrat das Halogen als Chlorsilber.

Analyse.

0,1618 Subst. 0,0959 AgJ (Zeisel)
0,1090 „ 0,0396 AgCl
$C_{34}H_{36}O_6N_4(CH_3)_2 \cdot 2\,HCl$ Ber. CH_3 4,3 % Cl 10,1 %
Gef. „ 3,78 „ „ 8,98 „

Der Versuch, ein bromwasserstoffsaures Salz herzustellen, fiel negativ aus. Es gelang mir nicht, trotz mancherlei Variationen der Versuchsbedingungen, aus der Lösung Kristalle abzuscheiden.

c) Monomethyläther.

1,0 des „Zwischenprodukts“ löste ich in 60 cm³ Äther auf, filtrierte von einem geringen, unlöslichen Rückstand ab und schüttelte den Äther drei bis vier Stunden lang auf der Maschine mit 100 cm³ 5%iger Salzsäure. Nach dem Abtrennen stellte ich die schön rotviolette Lösung ins Vakuum neben Schwefelsäure. Nach achttägigem Stehen war die Lösung ziemlich konzentriert geworden und es hatten sich rotviolette Kristallnadeln abgeschieden. Ich saugte sie ab, wusch mit einigen Tropfen starker Salzsäure nach und trocknete sie auf Ton gestrichen neben Schwefelsäure im Vakuum. Sie erwiesen sich zufolge einer Methoxyl- und Chlorbestimmung als das salzsaure Salz des Monomethyläthers. Sie besaßen keinen Schmelzpunkt; in Soda lösten sie sich leicht mit roter Farbe auf. Wasser gegenüber verhielten sie sich wie das salzsaure Salz des Dimethyläthers, das heißt sie spalteten sofort Chlorwasserstoff ab. Die Ausbeute betrug 0,42. Es war also hier durch das anhaltende Schütteln mit 5%iger Salzsäure und durch das lange Stehen mit der ziemlich konzentrierten Säure weitergehende Verseifung eingetreten.

Analyse.

0,1440 Subst. 0,0473 AgJ (Zeisel)
0,1068 „ 0,0474 AgCl (Carius)
$C_{34}H_{37}O_6N_4(CH_3)$ 2 HCl Ber. CH_3 2,2 % Cl 10,7 %
Gef. „ 2,1 „ „ 10,97 „

6. Einwirkung von Dimethylsulfat in alkalischer Lösung auf Hämatoporphyrin.

2,0 Hämatoporphyrin löste ich in 100 cm³ 1,5%iger Kalilauge (8 Mol. KOH), gab eine Lösung von 1,0 Dimethylsulfat in 5 cm³ Methylalkohol (etwas mehr als 2 Moleküle) hinzu und erhitzte auf dem Wasserbad eine halbe Stunde lang. Dann goß ich die rot gefärbte Lösung in Wasser, wodurch ein Niederschlag entstand. Diesen unterwarf ich nocheinmal derselben Behandlung. Zum Schlusse versetzte ich die alkalische Lösung mit 3 cm³ Dimethylsulfat und erwärmte auf dem Wasserbad. Die jetzt schwach saure Lösung goß ich in 1 Liter Wasser, wodurch sämtlicher Farbstoff gefällt wurde, den ich nach dem Abfiltrieren im Vakuum trocknete. Die Ausbeute an dem amorphen, roten Körper betrug 1,7. Eine Zeiselbestimmung gab folgendes Resultat:

0,2508 Subst. 0,1506 AgJ (Zeisel)
$C_{34}H_{36}O_6N_4(CH_3)_2$ Ber. CH_3 4,79 %
Gef. „ 3,83 „

Um dieses noch nicht einheitliche Reaktionsprodukt zu reinigen, behandelte ich 1,0 davon zuerst kalt, dann auf dem Wasserbad wiederholt mit je 10 cm³ Benzol, bis dieses keinen roten Farbstoff mehr aufnahm. Dabei blieb der größte Teil ungelöst. Dann schüttelte ich die Benzollösung mit verdünnter Sodalösung aus und fällte den in die alkalische Lösung übergegangenen Farbstoff mit Essigsäure aus, den ich im Vakuum über Schwefelsäure trocknete. Die Ausbeute betrug nur 0,15. Der erhaltene Körper war ein

lockeres, rotes Pulver; er war in Alkalien und Säuren leicht löslich. Da er aber den unscharfen Schmelzpunkt 106—108° besaß, erwies er sich als noch nicht ganz rein. Er war in Äther löslich und ließ sich aus dieser Lösung mit 5%iger Salzsäure ausschütteln. Durch seine Eigenschaften und seinen Methylgehalt erwies er sich als Dimethyläther des Hämatoporphyrins.

Analyse.

0,1326 Subst. 0,0913 AgJ (Zeisel)
$C_{34}H_{36}O_6N_4(CH_3)_2$ Ber. CH_3 4,79%
Gef. „ 4,4 „

Ich unternahm noch viele Versuche, bei denen ich die Versuchsbedingungen in der verschiedensten Weise änderte, konnte aber stets nur sehr schlechte Ausbeuten erzielen.

Behandelte ich dagegen Anhydrohämatoporphyrin auf analoge Weise mit Dimethylsulfat, so erhielt ich Produkte, die nur in ganz geringem Maße Methyl aufgenommen hatten, zum Beispiel:

0,2493	Subst.	0,0131	AgJ	(Zeisel)	Gef.	CH_3	0,33%
0,1172	„	0,0073	„	„	„	„	0,39 „
0,2864	„	0,0170	„	„	„	„	0,38 „

Dasselbe Anhydrohämatoporphyrin ließ sich aber mit Hilfe von Methylalkohol und Salzsäure glatt verestern.

Wesentlich bessere Ausbeuten erzielte ich bei folgender Darstellungsweise: Vier Portionen à 2,0 noch feuchtes, frisch dargestelltes Rohhämatoporphyrin (je = 0,4 Trockensubstanz) brachte ich mit Hilfe von möglichst wenig Soda in Lösung, gab etwa 5—10 g frisch gefälltes Bariumkarbonat zu und füllte zu 100 cm^3 mit Wasser auf. Diese Mischung versetzte ich mit einer Lösung von 2,0 Dimethylsulfat in 5 cm^3 Methylalkohol und schüttelte das Ganze 2 Stunden auf der Maschine. Hiebei entstand durch die entwickelte Kohlensäure etwas Überdruck. Nach dieser Zeit versetzte ich mit Essigsäure bis zur schwachsauren Reaktion, wobei der

Farbstoff ausfiel, und schüttelte mit Äther aus. Der tiefrot gefärbten Ätherlösung entzog ich mit 5%iger Salzsäure den Farbstoff, gab etwas Natriumazetat und so viel Natronlauge zu, bis der Farbstoff vollständig ausgefällt war, den ich abfiltrierte und im Vakuum trocknete. Das Präparat war ein hellrotes, amorphes Pulver, löslich in Natriumbikarbonat, Ammoniak und Salzsäure; schwer löslich in Benzol, leicht löslich in Äther, Chloroform und Alkohol. Zur Reinigung löste ich es einigemal in Äther, filtrierte, und ließ diesen verdunsten. Das so erhaltene Präparat besaß keinen Schmelzpunkt. Bei einer Zeiselbestimmung erhielt ich folgende Werte:

Analyse.

0,0690 Subst. 0,0488 AgJ (Zeisel)
$C_{34}H_{36}O_6N_4(CH_3)_2$ Ber. 4,79% (CH_3)
Gef. 4,51 „ „

Beim Behandeln mit wenig 5%iger Salzsäure ging der Körper reichlich in Lösung. Ich stellte diese tiefrote Flüssigkeit ins Vakuum, wobei sich nach einiger Zeit schöne Kristallnadeln abschieden, die ich absaugte und im Vakuum auf Ton trocknete. An Aussehen, Gestalt und Eigenschaften glichen sie vollständig denjenigen des salzsauren Dimethyläthers.

Analyse.

0,0458 Subst. 0,0169 AgCl (Carius)
$C_{34}H_{36}O_6N_4(CH_3)_2 \cdot 2HCl$ Ber. 10,1 % Cl
Gef. 9,12 „ „

Der nach dem beschriebenen Verfahren erhaltene Körper war seinen Eigenschaften nach ein Dimethyläther des Hämatoporphyrins; aber, da er keinen Schmelzpunkt besaß, wahrscheinlich ein Isomeres des Dimethyläthers vom Schmelzpunkt 105°.

Nach diesem Verfahren erhielt ich aus 8,0 feuchtem Rohhämatoporphyrin (= 1,6 Trockensubstanz) 0,7 in Äther löslichen Dimethyläther.

7. Komplexe Salze.

a) Salze des Dimethyläthers.

1. Silbersalz.

a) 0,4 Dimethyläther löste ich in 40 cm^3 Methylalkohol auf, gab 2 cm^3 Natriumazetatlösung und so lange verdünnte Silbernitratlösung dazu, bis sich der entstehende Niederschlag nicht mehr vermehrte. Ich gab nun noch ein Drittel des Volumens Wasser zu und ließ über Nacht stehen. Am andern Morgen goß ich die farblose Lösung von dem dunkelvioletten Niederschlag ab, wusch letzteren silberfrei und trocknete ihn bei Lichtabschluß im Vakuum, dann bei 100° im Trockenschrank.

Analyse.

0,1688 Subst. 0,0755 AgCl (Carius)
$C_{34}H_{38}O_6N_4(CH_3)_2Ag_2$ Ber. Ag 34,2 %
Gef. „ 33,7 „

b) 0,4 Dimethyläther löste ich in 50 cm^3 $\frac{n}{10}$ NH_3 auf, filtrierte, verdünnte mit 50 cm^3 Wasser und destillierte bei 37° unter vermindertem Druck so lange ab, bis keine ammoniakhaltenden Wasserdämpfe mehr übergingen. Die zurückgebliebene, tiefrote Lösung fällte ich mit 0,8 Silbernitrat und trocknete den erhaltenen Niederschlag im Vakuum bis zum konstanten Gewicht.

Analyse.

0,2107 Subst. 0,3508 CO_2 0,0743 H_2O 0,0729 Ag
$C_{34}H_{38}O_6N_4(CH_3)_2Ag_2$ Ber. C 45,62 % H 4,12 % Ag 34,21 %
Gef. „ 45,41 „ „ 3,92 „ „ 34,60 „

2. Zinksalz.

0,4 Dimethyläther löste ich in 30 cm^3 Methylalkohol und versetzte die Lösung mit 2 cm^3 10%iger Zinkazetatlösung. Hiedurch entstand ein hellroter Niederschlag, den ich über Nacht stehen ließ. Am andern

Morgen verdünnte ich mit 20 cm³ Wasser, gab noch 4 cm³ Zinklösung zu und filtrierte den Niederschlag ab. Das Filtrat war blaßrot gefärbt. Den Niederschlag wusch ich zinkfrei und trocknete ihn dann im Vakuum über Kalk. Ich erhielt 0,42 Zinksalz, das hellrot gefärbt war; beim Erhitzen im Trockenschrank auf 110° wurde es fast schwarz.

Analyse.

0,1564 Subst. 0,3194 CO_2 0,0746 H_2O 0,0273 ZnO
0,1492 „ 0,0270 ZnO

$[C_{34}H_{33}O_6N_4(CH_3)_2]_2Zn_3$	Ber.	C 59,54 %	H 5,37 %	Zn 13 53 %
	Gef.	„ 55,7 „	„ 5,3 „	„ 14,01 „
	„	„ — „	„ — „	„ 14,5 „

3. Eisensalz.

Bei der Seite 40 beschriebenen Trennung des „Zwischenprodukts“ mit Hilfe von Äther und Salzsäure blieb nach dem Ausschütteln in dem Äther ein Körper mit rein brauner Farbe gelöst zurück. Da dieser sich weder durch Petroläther fällen noch mit Sodalösung ausschütteln ließ, so verfuhr ich derart, daß ich den größten Teil des Äthers nach dem Trocknen mit entwässertem Magnesiumsulfat abdestillierte und den Rest freiwillig verdunsten ließ. Als Rückstand erhielt ich einen schwarzen, amorphen Körper, der in verdünnten Säuren und Alkalien in der Kälte unlöslich war. Er ergab folgende Zusammensetzung:

Analyse.

0,1280 Subst. 0,0235 AgBr
0,2122 „ 0,0238 Fe_2O_3
0,3663 „ 0,3753 AgJ (Zeisel)
Gef. Br 7,81 %[7]) Fe 7,85 % CH_3 6,53 %

1,5 dieses Körpers rieb ich mit 60 cm³ Wasser an, gab 60 cm³ $\frac{n}{1}$ NaOH zu und erhitzte eine halbe Stunde

[7]) Die Analyse ist insofern nicht ganz einwandfrei, als unterlassen wurde, das Halogen näher zu charakterisieren. Es wurde als Brom berechnet, während, wie spätere Versuche zeigten, Chlor vorlag. Vergl. Zeitschrift für physiol. Chemie 86. Seite 74 u. 75.

lang im Wasserbad. Hiebei ging der Körper allmählich mit rotbrauner Farbe in Lösung und hinterließ beim Filtrieren keinen Rückstand. Die noch heiße Lösung fällte ich mit Essigsäure aus, wobei ein eigentümlicher Geruch auftrat, der auch beim Fällen von Bilirubin beobachtet wurde. Im Filtrat konnte ich durch eine oberflächliche Bestimmung ca. 6% Brom nachweisen.

1,5 Subst. = 0,21 AgBr.

Den erhaltenen schwarzen Niederschlag nahm ich in 60 cm³ $\frac{n}{2}$ NaOH auf, erhitzte die Lösung 20 Minuten im Wasserbad, filtrierte und fällte wieder mit Essigsäure. Diesmal konnte ich weder im Filtrat, noch im Farbstoff bei einer Cariusbestimmung Brom nachweisen.

Den zwischen Filtrierpapier abgetrockneten, noch etwas feuchten Niederschlag brachte ich mit Hilfe von 2,1 cm³ $\frac{n}{1}$ NH_3 und 30 cm³ Methylalkohol in Lösung und erhitzte 20 Minuten lang auf dem Wasserbad am Rückflußkühler. Während des Siedens gab ich allmählich 0,55 Dimethylsulfat gelöst in 15 cm³ Methylalkohol zu. Die klare, schwach alkalische Lösung säuerte ich mit Schwefelsäure schwach an, filtrierte vom Niederschlag und wusch diesen SO_4-frei. Nach dem Trocknen im Vakuum hatte ich 0,85 des schwarzen, amorphen Körpers in Händen.

Dieser war, wie schon erwähnt, löslich in Äther und jetzt auch in Bikarbonat, während er vor der Bromabspaltung darin unlöslich war. Dagegen blieb er auch jetzt noch in Säuren unlöslich. Er löste sich in Na_2HPO_4 restlos auf, wobei keine Abspaltung von Eisen erfolgte, und ließ sich aus dieser Lösung durch Phosphorsäure wieder ausfällen. Schmelzpunkt besaß er keinen.

Analyse.

0,1914 Subst. 0,4338 CO_2 0,1005 H_2O 0,0214 Fe_2O_3
0,2688 „ 19,6 cm³ N (16,5° 734 mm)
0,1962 „ 0,1049 Ag J (Zeisel)
$C_{34}H_{32}O_6N_4Fe(OH)(CH_3)_2$
Ber. C 62,16% H 5,61% N 8,01% Fe 8,01% CH_3 4,3%
Gef. „ 61,81 „ „ 5,84 „ „ 8,15 „ „ 7,83 „ „ 3,5 „

Der Körper erwies sich als komplexes Eisensalz des Dimethyläthers und es zeigte sich bei der Wiederholung dieses Versuchs, daß nach der Wegnahme des Broms eine Behandlung mit Dimethylsulfat nicht mehr nötig war.

Bei einem Versuch, das Eisen durch Silber zu ersetzen, löste ich das Eisensalz in verdünntem Ammoniak und gab überschüssige Silbernitratlösung zu. Der entstandene Niederschlag gab nach dem Trocknen folgende Analysenwerte:

Analyse.

0,2016 Subst. 0,4569 CO_2 0,1020 H_2O 0,0223 Fe_2O_3
$C_{34}H_{32}O_6N_4Fe(OH)(CH_3)_2$ Ber. C 62,16% H 5,61% Fe 8,01%
Gef. „ 61,8 „ „ 5,6 „ „ 7,8 „

Es hatte also keinerlei Austausch von Metall stattgefunden und ich hatte mein Ausgangsprodukt wieder erhalten.

Um ferner zu ermitteln, wie viel NH_3 bei der Lösung des Körpers gebunden wird, löste ich 0,4836 davon in 50 cm³ $\frac{n}{10}$ NH_3 auf. Nach dem Filtrieren hatte ich 0,0056 Rückstand auf dem Filter, es waren also 0,4780 Substanz in Lösung gegangen. Diese verdünnte ich mit Wasser zu 100 cm³ und destillierte unter vermindertem Druck bei 37° eine Stunde lang in eine Vorlage, die 45 cm³ $\frac{n}{10}$ SO_4H_2 enthielt. Beim Zurücktitrieren der vorgelegten Säure mit $\frac{n}{10}$ NaOH (Verbrauch 25 cm³, Indikator Methylorange) fand ich, daß 20 cm³ $\frac{n}{10}$ NH_3 zur Lösung des Farbstoffs nötig gewesen waren. Beim

Eintritt von $3NH_3$ in ein Molekül des Eisensalzes berechnen sich

$$20{,}6\ cm^3\ \frac{n}{10}\ NH_3 \quad \text{für} \quad C_{34}H_{32}O_6N_4Fe(OH)(CH_3)_2(NH_3)_3$$

Die Verhältnisse liegen also auch hier wie bei den schon beschriebenen Ammoniumverbindungen des Hämatoporphyrins.

b) Salze des Dimethylesters.

1. Zinksalz.

0,5 des mit Hilfe von Methylalkohol und Salzsäure dargestellten Dimethylesters behandelte ich auf dem Wasserbad dreimal mit je 50 cm³ Methylalkohol und extrahierte das Ungelöste so lange im Soxhletapparat, bis der Alkohol farblos ablief. Das schön rot gefärbte Filtrat (200 cm³) versetzte ich noch warm mit methylalkoholischer Zinkazetatlösung und ließ die Mischung in offener Kristallisierschale stehen. Am andern Tag hatte sich ein dunkel gefärbter Niederschlag in kugeligen Kristallen ausgeschieden, den ich abfiltrierte, zinkfrei wusch und im Vakuum trocknete. Bei 100° getrocknet waren die Kristalle von dunkelroter Farbe, unlöslich in Wasser, schwerlöslich in Methylalkohol.

Analyse.

0,1368 Subst. 0,0136 ZnO
0,1145 „ 0,0137 „
$C_{34}H_{32}O_5N_4(CH_3)_2$ Zn Ber. 9,68 % Zn
Gef. 9,53 „ „
„ 9,63 „ „

2. Eisensalz.

Bei seinen Untersuchungen über das Mesoporphyrin und dessen Salze hatte Zaleski[8]) die Beobachtung gemacht, daß auch die Ester des Mesoporphyrins mit Metallen gut kristallisierende Salze bildeten. Wenn

[8]) Zeitschrift für physiol. Chemie 37. 70 und 43. 12.

auch zu erwarten stand, daß nach dem ganzen übrigen Verhalten des Hämatoporphyrins auch dessen Ester nur schwer mit Metallen gut kristallisierende Salze geben werden, so erhielt ich doch auch ein komplexes Eisensalz in kristallinischer Form.

Ich löste 2,0 Dimethylester in 150 cm^3 80%iger Essigsäure auf dem Wasserbad auf. Die filtrierte Lösung verdünnte ich mit 20 cm^3 Wasser, wobei keine Trübung der violettroten Lösung eintrat. Unterdessen hatte ich mir auf dem Wasserbad eine Lösung von Eisenpulver in 60%iger Essigsäure hergestellt und filtrierte dieses Ferroazetat nun in kleinen Portionen in die auf dem Wasserbad erhitzte Farbstofflösung. Nach kurzer Zeit trat ein Farbenumschlag in braunrot ein, worauf ich mit der Zugabe der Eisenlösung aufhörte und die Lösung an ruhigem Ort langsam erkalten ließ. Am andern Tag hatten sich schwarze Kristalle abgeschieden, die ich abfiltrierte, auswusch und zuerst im Vakuum, dann bei 100° trocknete. Die Kristalle zeigten kugel- und hantelförmige Formen und lagerten in größeren und kleineren Gruppen aneinander, so das Bild eines wirren Netzwerkes gebend. Sie lösten sich mit brauner Farbe in Äther auf, woraus sie sich mit 5%iger Salzsäure nicht ausschütteln ließen. Ebenso lösten sie sich leicht in Bikarbonat und konnten durch Essigsäure in amorpher Form wieder ausgefällt werden.

Analyse.

0,1532 Subst. 0,3474 CO_2 0,0798 H_2O 0,0176 Fe_2O_3
$C_{34}H_{32}O_6N_4Fe(OH)(CH_3)_2$ Ber. C 62,06% H 5,6% Fe 8,04%
Gef. „ 61,84 „ „ 5,8 „ „ 8,04 „

Das Präparat zeigte also gleiche Zusammensetzung und Eigenschaften wie das komplexe Eisensalz, das ich bei der Behandlung des „Zwischenprodukts“ mit Äther und Salzsäure erhalten hatte, und das komplexe Eisensalz des Esters konnte somit als Isomeres des entsprechenden Salzes des Äthers angesprochen werden.

8. Oxydation von Hämatoporphyrin

mittels CrO_3 und SO_4H_2.

1. Ich führte die Oxydation mit einem Präparat aus, das in verdünnter Schwefelsäure unlöslich geworden war.

5,0 Hämatoporphyrin rieb ich mit 250 cm³ 50vol%iger Schwefelsäure an, kühlte mit Eis auf 0° ab und ließ bei Eiskühlung eine Lösung von 7,4 CrO_3 (12 Atome O auf 1 Mol.) in 50 cm³ Wasser im Lauf einer Stunde unter Turbinieren zutropfen. Dabei stieg die Temperatur allmählich auf +15°. Die Oxydationsflüssigkeit schüttelte ich erschöpfend mit Äther aus, filtrierte und entzog diesem mit 10%iger Soda die sauren Bestandteile. Nach gelindem Erwärmen, um den Äther zu entfernen, säuerte ich die alkalische Lösung mit Schwefelsäure an und ließ 14 Tage stehen. Dann schüttelte ich mit Äther aus, destillierte diesen ab, nahm den Rückstand mit 10%iger Sodalösung auf, übersättigte nach dem Filtrieren mit Schwefelsäure und schüttelte wieder mit Äther aus. Nach dem Trocknen mit entwässertem Natriumsulfat destillierte ich den Äther ab und erhielt 1,9 gereinigte Hämatinsäure.

Hiebei war kein Methyläthylmaleinimid entstanden.

Die nach dem Ausschütteln mit Äther hinterbliebene schwefelsaure Lösung extrahierte ich im Extraktionsapparat mit Äther und zwar in Portionen von 100 cm³ je 24 Stunden lang. Den dabei erhaltenen hellgelb gefärbten Auszug verdampfte ich auf dem Wasserbad, nahm den Rückstand in Wasser auf und filtrierte. Hiebei blieb etwas Harz zurück. Die klare Lösung gab mit $CaCl_2$ sofort einen Niederschlag von Kalziumoxalat. Ich schüttelte nun die Lösung mit 3,0 fein zerriebenem Kalziumoxyd zwei Stunden lang auf der Maschine bei 20° unter Zugabe von 200 cm³ Wasser. Danach filtrierte ich, wusch den Rückstand

mit Wasser von 20° so lange nach, bis ich 500 cm³ Filtrat hatte.

Der Filterrückstand bestand jetzt nur noch aus Kalziumoxyd und oxalsaurem Kalk, während er sein bernsteinsaures Kalzium an das warme Wasser abgegeben hatte. Den Rückstand spritzte ich ab, gab überschüssige Schwefelsäure zu und filtrierte. Im Filtrat (360 cm³) bestimmte ich die in Freiheit gesetzte Oxalsäure durch Titrieren mit Kaliumpermanganatlösung von bekanntem Gehalt

100 cm³ $KMnO_4$lösung = 28,57 $\frac{n}{10}$ Oxalsäure
50 cm³ Filtrat verbrauchten 23 cm³ $KMnO_4$lösung
360 „ „ „ 165,6 „ „

Es ergab sich so das Vorhandensein von 0,213 Oxalsäure.

Das Filtrat verdampfte ich auf dem Wasserbad zur Trockene, gab zu dem weißen Rückstand verdünnte Schwefelsäure und extrahierte das Gemisch längere Zeit (24 Stunden) mit Äther im Apparat. Den Ätherauszug verdampfte ich, nahm den Rückstand in Wasser auf und fällte in der Hitze mit Bariumchlorid die Bernsteinsäure als bernsteinsaures Ba. aus. Das ausgewaschene Salz zerlegte ich mit Salzsäure und bestimmte das Barium als Sulfat = 0,3483 $BaSO_4$, woraus sich die Menge der Bernsteinsäure zu 0,176 g berechnen ließ.

2. Bei einer zweiten, mit 5,0 desselben Präparates und unter denselben Bedingungen unternommenen Oxydation erhielt ich 1,91 Hämatinsäure und ebenfalls kein Imid.

Die Oxydationsflüssigkeit wurde wie unter 1. behandelt und die Oxal- und Bernsteinsäure über ihre Ca-Salze getrennt.

Ich erhielt 600 cm³ Oxalsäurelösung, die ich mit einer Kaliumpermanganatlösung titrierte, von der 30,5 cm³ 100 cm³ $\frac{n}{10}$ Oxalsäure entsprachen. Zu 150 cm³

brauchte ich 3,6 cm³ $KMnO_4$-Lösung entsprechend 11,8 cm³ $\frac{n}{10}$ Oxalsäure oder 0,0531 Oxalsäure.

Dies ergibt für die angewandten 5,0 Hämatoporphyrin 0,212 Oxalsäure.

Die erhaltene Lösung von bernsteinsaurem Kalzium verdampfte ich zur Trockene, nahm den Rückstand in verdünnter SO_4H_2 auf, extrahierte 24 Stunden mit Äther im Apparat und erhielt so 0,84 rohe Bernsteinsäure. Nach dem Reinigen mittels Äther und 25%iger Salpetersäure, zeigte sie den Schmelzpunkt 183°.

Zusammenstellung.

1. 5,0 Hp : 1,9 Hämatinsäure : 0,213 Oxalsäure : 0,176 Bernsteinsäure
2. 5,0 Hp : 1,91 „ : 0,212 „ : 0,84 rohe „

9. Wiedereinführung von Eisen in das Hämatoporphyrin.

In Wiederholung der Versuche Laidlaws benützte ich anstelle des Stokes'schen Reagenzes eine Lösung von etwas anderer Zusammensetzung. Ich löste zu dem Zweck 2,2 Ferroammoniumsulfat (kristallisiertes Mohrsches Salz) = 1 Molekül in wenig ausgekochtem Wasser auf und ebenso 1,0 Ammoniumtartarat = 1 Molekül, vermischte beide filtrierte Lösungen und gab so viel Ammoniak zu, daß sich der entstandene Niederschlag gerade wieder löste. Dann füllte ich mit Wasser auf 10 cm³ auf. Das Reagens war von grünbrauner Farbe, vollständig klar und ließ sich ohne Zersetzung einige Tage aufbewahren.

1,0 Anhydrohämatoporphyrin schüttelte ich eine Viertelstunde lang mit 75 cm³ Wasser, das 12 Tropfen 20%ige Ammoniakflüssigkeit enthielt, filtrierte und erwärmte auf dem Wasserbad. Dazu gab ich 10 Tropfen 50%ige Hydrazinhydratlösung und 20 cm³ Stokes' Reagens und ließ 2 Stunden auf dem Wasserbad stehen.

Dann setzte ich starke Natronlauge zu, um das Hydrazinhydrat zu zerstören, stellte die Lösung ins Vakuum neben Schwefelsäure, bis sie alles Ammoniak an letztere abgegeben hatte, und fällte durch Übersättigen mit Salzsäure den Farbstoff aus. Den so erhaltenen Niederschlag reinigte ich durch Lösen in Natriumbikarbonat und Wiederfällen mit Essigsäure. Die Ausbeute betrug 0,68.

Der erhaltene schwarze Körper gab an Methylalkohol nur sehr wenig Lösliches ab; dagegen brachte ich ihn leicht in Lösung nach Zusatz einiger Tropfen verdünnter Schwefelsäure. Zu der klaren Lösung gab ich 5 cm^3 starke Salzsäure und erwärmte eine Viertelstunde lang auf dem Wasserbad. Nach dem Erkalten hatten sich 0,122 g gut ausgebildete schwarze Kristalle abgeschieden. Dem Aussehen nach hatten sie große Ähnlichkeit mit den Teichmannschen Häminkristallen. Sie gaben bei der Analyse zwar keine genau auf Hämin stimmende Werte, da der Chlorgehalt zu nieder war, aber sie standen, auch nach ihrem spektroskopischen Verhalten, dem Hämin immerhin ziemlich nahe.

Analyse.

0,1021 Subst. 0,0074 AgCl 0,0123 Fe_2O_3
$C_{34}H_{32}O_4N_4FeCl$ Ber. Fe 8,6 % Cl 5,44 %
Gef. „ 8,43 „ „ 1,8 „

Bei wiederholten Versuchen erhielt ich für Eisen ganz gut stimmende Werte, der Chlorgehalt stieg dagegen nie über 4,12%.

Bei einem Präparat, das ich nach der Darstellung in mit einigen Tropfen verdünnter Schwefelsäure angesäuertem Methylalkohol gelöst und durch Fällen mit Salzsäure gereinigt hatte, erhielt ich folgende Analysenwerte, die auch nicht vollständig auf Hämin stimmten; wie dies ja auch zu erwarten war, da ich je vom Hämatoporphyrin ausgegangen war.

Analyse.

0,1444 Subst. 0,3120 CO_2 0,0593 H_2O
0,1599 „ 0,0210 Fe_2O_3
0,1462 „ 0,0244 AgCl (Carius)

$C_{34}H_{32}O_4N_4FeCl$	Ber.	C 62,66 %	H 4,9 %	Fe 8,6 %	Cl 5,44 %
	Gef.	„ 58,9 „	„ 4,56 „	„ 9,2 „	„ 4,13 „

Es ist also nach diesem Verfahren möglich, wenn auch nicht zu reinem typischen Hämin, so doch wenigstens zu ähnlichen Körpern zu gelangen.

II. Abschnitt: Über das Mesoporphyrin.

1. Gewinnung des Ausgangsmaterials.

a) Darstellung des Rohmesoporphyrins.[9])

8,0 umkristallisiertes Hämin erhitzte ich in Portionen von je 2,0 mit 30 cm³ Eisessig und 6 cm³ Jodwasserstoffsäure (spez. Gew. 1,7) in kleinen Rundkolben 15 Minuten lang auf dem Wasserbade unter öfterem Umschwenken, bis alles mit schön roter Farbe in Lösung gegangen war. Dann setzte ich 3 cm³ Wasser zu und verkleinerte die Flamme unter dem Wasserbad, so daß dieses nur noch mäßig warm war. Unter fortwährendem Umschwenken gab ich nun 2,5 Jodphosphonium in kleinen Portionen im Laufe einer Viertelstunde zu. Nach dieser Zeit goß ich die tiefrot gefärbte Lösung in 80 cm³ Wasser, ließ abkühlen und setzte dann noch 60 cm³ 20%iger Natronlauge zu. Hiebei fiel ein rotbrauner Niederschlag aus, den ich auf dem Filter jodfrei wusch und zum Abtrocknen zwischen Filtrierpapier legte. Er stellte das rohe Mesoporphyrin vor.

[9]) Zaleski und Merunowicz, Bullet. de l'Académie des Sciences de Cracovie 1907 pag. 640.

b) Reinigung des Rohmesoporphyrins.

1. Das auf die eben beschriebene Weise erhaltene noch feuchte Mesoporphyrin löste ich in Natriumbikarbonatlösung, filtrierte, wobei keine wägbare Menge von unverändertem Hämin zurückblieb, und fällte den Farbstoff durch Essigsäure wieder aus. Den so erhaltenen noch feuchten Niederschlag rührte ich mit 300 cm^3 15%iger Schwefelsäure an, filtrierte nach einer halben Stunde ab und digerierte den nicht gelösten Rückstand nocheinmal auf dieselbe Weise. Ich erhielt so eine Lösung von schwefelsaurem Mesoporphyrin, die ich dann zur Oxydation verwendete.

Hiebei blieben 3,6 eines schwarzen Körpers, des „Nebenproduktes", ungelöst zurück, das ich durch Lösen in Bikarbonat und Wiederfällen mit Essigsäure reinigte.

In eine Probe der schwefelsauren Mesoporphyrinlösung leitete ich bei niederer Temperatur Salzsäuregas bis zur Sättigung ein; beim Stehen schied sich das schwer lösliche salzsaure Mesoporphyrin in schönen Kristallen ab.

2. 8 Portionen zu je 2,0 Hämin führte ich nach der oben beschriebenen Zaleskischen Methode in Mesoporphyrin über. Das Rohprodukt löste ich in kalter Natriumbikarbonatlösung (40,0 : 1500,0) auf, fällte mit Essigsäure und digerierte den erhaltenen, durch Liegen zwischen Filtrierpapier vom meisten Wasser befreiten Niederschlag 10 Minuten lang auf dem Wasserbad mit 100 cm^3 10%iger Schwefelsäure. Nach dem Abfiltrieren der konzentrierten, tiefroten Lösung behandelte ich den Rückstand noch zweimal auf dieselbe Weise.

Die vereinigten schwefelsauren Lösungen sättigte ich bei niederer Temperatur mit Chlorwasserstoff, worauf sich beim Stehen über Nacht reichliche Mengen von salzsaurem Mesoporphyrin in schönen Kristallnadeln abschieden. Diese wusch ich mit kalter Salz-

säure schwefelsäurefrei und trocknete sie im Vakuum über Kalk.

Den beim Digerieren mit warmer Schwefelsäure ungelöst gebliebenen Rückstand behandelte ich noch einigemal auf dieselbe Weise, wobei immerhin eine noch ganz ansehnliche Menge Farbstoff in Lösung ging. Diese Auszüge, sowie die Mutterlauge des salzsauren Mesoporphyrins vereinigte ich und fällte den Farbstoff durch Natriumpikrat aus. Das abgeschiedene Pikrat des Mesoporphyrins zerlegte ich dann auf dem Filter durch Auswaschen mit heißem Wasser, bis das abfließende Waschwasser nicht mehr die gelbe Farbe der Pikrinsäurelösung zeigte. Nach dem Trocknen im Vakuum brachte ich den Niederschlag in einen Soxhletapparat und befreite ihn durch Extrahieren mit Petroläther von den letzten Mengen Pikrinsäure.

Das so erhaltene amorphe Mesoporphyrin rührte ich mit 250 cm^3 2,5%iger Salzsäure an, ließ über Nacht stehen und gewann nach dem Filtrieren durch Aufleiten von Chlorwasserstoff weitere Mengen von kristallisiertem, salzsaurem Mesoporphyrin.

Aus den verarbeiteten 16,0 Hämin erhielt ich im ganzen 6,48 salzsaures Mesoporphyrin; das ist eine Ausbeute von 40% des verwendeten Ausgangsmaterials.

Analyse.

0,1713 Subst. 0,3995 CO_2 0,0966 H_2O
0,1312 „ 0,0598 AgCl (Carius)
$C_{34}H_{38}O_4N_4 . 2HCl$ Ber. C 63,85% H 5,97% Cl 11,11%
Gef. „ 63,6 „ „ 6,26 „ „ 11,27 „

2. Oxydation des Mesoporphyrins

mittels CrO_3 und SO_4H_2.

1. Die nach Seite 57. 1. erhaltene schwefelsaure Mesoporphyrinlösung aus 8,0 Hämin kühlte ich auf —2° ab, brachte die Flüssigkeit mittels der Turbine in Bewegung und ließ eine Lösung von 7,2 CrO_3 in 50 cm^3

Wasser langsam dazufließen. (Dies entspricht etwa 12 At. Sauerstoff für 1 Mol. Farbstoff, wenn man etwa 5,0 desselben annimmt.) Da sich bei dieser niederen Temperatur ein Niederschlag von Mesoporphyrinchromat abgeschieden hatte, gab ich noch 400 cm^3 konzentrierte Schwefelsäure zu; dabei ging der Niederschlag in Lösung und die Temperatur stieg auf 30°. Es waren jetzt 1330 cm^3 Lösung mit einem Gehalt von 30% Schwefelsäure. Beim Stehen über Nacht hatte sich die Oxydation vollzogen; die Lösung war jetzt grün gefärbt und deutlich der Geruch nach Methyläthylmaleinimid wahrzunehmen.

Die Oxydationsflüssigkeit schüttelte ich nun erschöpfend mit Äther aus und entzog diesem durch 10%ige Sodalösung die sauren Anteile. Nach dem Trocknen des Äthers mit entwässertem Natriumsulfat destillierte ich den größten Teil ab und ließ den Rest im Kugelschälchen langsam verdunsten. Ich erhielt 0,6 reines Methyläthylmaleinimid in schönen Kristallen. Diese besaßen den charakteristischen Geruch und hatten den scharfen Schmelzpunkt 67°.

Analyse.

0,1190 Subst. 10,4 cm^3 N (18,5° 741 mm, Dumas)
$C_7H_9O_2N$ Ber. N 10,07%
Gef. „ 9,81 „

Die Sodalösung gab nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure an Äther 1,0 reine, schön kristallisierende Hämatinsäure $C_8H_9O_4N$ ab.

Die Oxydationsprodukte Hämatinsäure und Methyläthylmaleinimid des Mesoporphyrins hatte ich also in einer Ausbeute von etwa 30% der berechneten Menge und zwar fast genau im Verhältnis ihrer Molekulargewichte erhalten.

2. Bei der Oxydation des nach der oben beschriebenen Methode erhaltenen kristallisierten salzsauren Mesoporphyrins verfuhr ich folgendermaßen:

5,0 reines salzsaures Mesoporphyrin löste ich in verdünnter Natronlauge auf, fällte mit Essigsäure den Farbstoff amorph aus, wusch ihn Cl-frei und trocknete ihn im Vakuum.

Je die Hälfte davon löste ich in 250 cm^3 35%ige Schwefelsäure auf, ließ bei Zimmertemperatur eine Lösung von 3,6 CrO_3 in 30 cm^3 Wasser (12 At. O: 1 Mol. Mp.) unter Turbinieren langsam zufließen. Da sich hiebei das Chromsalz des Mesoporphyrins abschied, erwärmte ich auf 30°, wodurch Lösung eintrat, und ließ über Nacht stehen. Nach dieser Zeit hatte sich die Oxydation vollzogen und in der Flüssigkeit ließ sich jetzt keine freie Chromsäure mehr nachweisen.

Nach erschöpfendem Ausschütteln mit Äther entzog ich diesem die sauren Anteile mit 10% Sodalösung, trocknete ihn mit entwässertem Natriumsulfat und destillierte den größten Teil ab. Nach freiwilligem Verdunsten des übrigen Lösungsmittels hinterblieben je 0,38 Methyläthylmaleinimid mit dem Schmelzpunkt 67° und dem für das Imid charakteristischen Geruch.

Die Sodalösungen gaben nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure an Äther 0,59 resp. 0,68 Hämatinsäure $C_8H_9O_4N$ ab. Der Schmelzpunkt der daraus durch Verseifen gewonnenen Hämatinsäure $C_8H_8O_5$ lag bei 97°.

Es war also auf diese Weise nicht ganz je ein Molekül der Oxydationsprodukte aus einem Molekül Mesoporphyrin erhalten worden:

Ber.	1,4	Hämatinsäure	1,09 Imid
Gef.	1,27	„	0,76 „

Zieht man bei der Berechnung die bei einer zweiten Oxydation erhaltene bessere Ausbeute an Hämatinsäure in Betracht, so gestaltet sich das Verhältnis noch günstiger:

Ber.	1,4	Hämatinsäure	1,09 Imid
Gef.	1,36	„	0,76 „

3. Zu einer weiteren Oxydation verwendete ich ein bei der Darstellung von Hämopyrrol erhaltenes unreines Präparat. Dasselbe war von schwarzer Farbe, in Soda vollständig mit brauner Farbe löslich, in starker Salzsäure nur zum Teil löslich.

8,0 des Körpers löste ich in fein geriebenem Zustand in 150 cm^3 konzentrierter Schwefelsäure, verdünnte mit 150 cm^3 Wasser und kühlte auf 0° ab. Unter Kühlung und andauernder Bewegung mittels der Turbine ließ ich im Laufe einer Stunde eine Lösung von 12,0 CrO_3 in 50 cm^3 Wasser zutropfen. Während der Oxydation war die Temperatur zwischen —2° und +1°.

Die jetzt rein grün gefärbte Lösung, die keine freie Chromsäure mehr enthielt, schüttelte ich erschöpfend mit Äther aus, entzog diesem durch Soda die sauren Bestandteile, trocknete ihn und destillierte vorsichtig ab. Den Rückstand nahm ich in etwas Petroläther auf und ließ freiwillig verdunsten. Es hinterblieb 0,5 noch nicht ganz reines Methyläthylmaleinimid vom unscharfen Schmelzpunkt 61—63°.

Zur Reinigung löste ich es in etwas Äther, schüttelte mehrmals mit je 3 Tropfen 40%iger Salzsäure, dann mit Sodalösung, schließlich mit Wasser aus. Nach dem Trocknen mit entwässertem Natriumsulfat ließ ich freiwillig verdunsten und gewann so 0,37 reines Imid vom Schmelzpunkt 67°.

Die, die sauren Anteile enthaltende Sodalösung säuerte ich mit Schwefelsäure an, extrahierte im Apparat erschöpfend mit Äther und destillierte diesen ab. Den Rückstand unterwarf ich der Destillation mit Wasserdämpfen.

a) Den nicht übergegangenen Teil, der in heißem Wasser mit gelblicher Farbe löslich war, filtrierte ich, wobei nur geringe Mengen eines harzigen Körpers auf dem Filter blieben, versetzte die klare Lösung mit $Ba(OH)_2$ und erhitzte, bis kein Ammoniak mehr ent-

wich. Den entstandenen Niederschlag von hämatinsaurem Barium saugte ich ab, zerlegte ihn mit Salzsäure, schüttelte mit Äther aus und destillierte diesen nach dem Trocknen ab. Die dabei zurückgebliebene Hämatinsäure schüttelte ich kalt mit einer Aufschwemmung von frisch gefälltem Kalziumkarbonat, wobei Kohlensäure entwich. Nach dem Abfiltrieren von überschüssigem Kalziumkarbonat erhitzte ich das Filtrat zum Sieden. Dabei entstand ein weißer Niederschlag, der unter dem Mikroskop betrachtet aus einheitlichen, großen, zum Teil gekrümmten Kristallnadeln von hämatinsaurem Kalzium bestand. Ausbeute 1,0.

Analyse.

0,1810 Subst. 0,0603 CaO
$C_8H_6O_5Ca$ Ber. 24,8 % Ca
Gef. 23,7 „ „

Beim weiteren Eindampfen der Mutterlauge erhielt ich noch einen Niederschlag von hämatinsaurem Kalzium, bei dem aber die Kristalle klein und schlecht ausgebildet waren.

Das hämatinsaure Kalzium löste ich in verdünnter Essigsäure, fällte das Kalzium durch Ammoniumoxalat aus, entfernte nach dem Abfiltrieren die überschüssige Oxalsäure durch Kalziumchlorid, rauchte das Filtrat auf dem Wasserbad mit Schwefelsäure ab, verdünnte mit Wasser und schüttelte mit Äther aus. Auf diese Weise gewann ich die Hämatinsäure in schön ausgebildeten Kristallen vom Schmelzpunkt 96°.

b) Das mit Wasserdampf übergegangene Destillat verdampfte ich nach Zusatz von Bariumhydrat auf dem Wasserbad zur Trockene, zerlegte den Rückstand mit verdünnter Salzsäure, schüttelte mit Äther aus und diesen wieder mit verdünntem Ammoniak. Den Ammoniaküberschuß verjagte ich auf dem Wasserbad, versetzte mit Bariumhydrat und erhitzte zum Sieden. Hiebei entstand ein rein weißer Niederschlag, der aus

feinen, spitzen Kristallnadeln bestand, und nach dem Auswaschen mit heißem Wasser 0,1 betrug. Eine eingehende Untersuchung konnte wegen des wenigen Materials nicht unternommen werden.

4. Zum folgenden Oxydationsversuch verwendete ich ein anderes, ebenfalls bei der Hämopyrroldarstellung erhaltenes, unreines Mesoporphyrinpräparat.

a) 5,0 des fein gepulverten Körpers rieb ich allmählich mit 150 cm^3 50volum%iger Schwefelsäure an, ließ über Nacht auf Eis stehen und oxydierte bei —5° bis +4° mit einer Lösung von 7,1 CrO_3 in 50,0 Wasser (12 At. O auf 1 Mol.) im Laufe von 40 Minuten. Nach viertägigem Stehen bei Zimmertemperatur erwärmte ich die Lösung eine halbe Stunde lang auf 50° und ätherte die braune Lösung erschöpfend aus.

Den Ätherauszug schüttelte ich mit Soda aus; übersättigte mit Schwefelsäure, nahm mit Äther auf, trocknete diesen und erhielt nach dem Abdestillieren desselben 0,34 reine Hämatinsäure in schönen Kristallen vom Schmelzpunkt 96—97°.

Die braune Oxydationsflüssigkeit oxydierte ich dann mit weiteren 5,25 CrO_3 (= 9 Atomen O:1 Mol.) und erhielt nochmals 0,34 Hämatinsäure. Zusammen also: 0,68 Hämatinsäure und 0,15 Methyläthylmaleinimid.

b) Bei einer zweiten auf die gleiche Weise mit 5,0 desselben Präparates vorgenommenen Oxydation erhitzte ich nacheinander je 30 Minuten am Rückflußkühler auf dem Wasserbad nach folgendem Schema (Hämatinsäure und Imid schüttelte ich nach bekannter Weise mit Äther aus):

W.B. oxydiert mit	12 At. O	Lösung	braun	0,66	Ht.-Säure	0,11	Imid
„ „ „ „ weiteren	4 „	„	„	„	0,21	„	„	0,06	„
„ „ „ „ „	5 „	„	„	grün	0,25	„	„	0,01	„
Zusammen	21 Atom O				1,12	Ht.-Säure	0,18	Imid

Die Oxydationsflüssigkeit extrahierte ich dann 24 Stunden lang im Apparat mit Äther und trennte, wie beim Hämatoporphyrin (cf. S. 52), Oxalsäure und Bernsteinsäure über ihre Kalziumsalze.

Die mit Schwefelsäure freigemachte Oxalsäure titrierte ich mit Kaliumpermanganatlösung, von der 6,1 cm^3 = 20 cm^3 $\frac{n}{10}$ Oxalsäure entsprechen. Davon verbrauchte ich 6 cm^3 = 19,7 cm^3 $\frac{n}{10}$ Oxalsäure = 0,09 Oxalsäure.

An roher Bernsteinsäure erhielt ich 0,5, die nach dem Reinigen aus 25%iger Salpetersäure noch 0,22 vom Schmelzpunkt 182—183° betrug.

3. Das „Nebenprodukt" der Mesoporphyrindarstellung.

Der bei der Reinigung des Mesoporphyrins erhaltene, in Schwefelsäure unlösliche schwarze Körper, war beim Digerieren auf dem Wasserbade zu einer zähen, weichen Masse geschmolzen. Nach dem Trocknen war er sehr spröde und ließ sich leicht zu Pulver zerreiben. Dagegen zeigte er im Kapillarröhrchen erhitzt keinen scharfen Schmelzpunkt. Er löste sich leicht in Bikarbonat und ließ sich durch Ausfällen mittels Essigsäure reinigen.

Bei einer Analyse erhielt ich folgende Werte:

0.1612 Subst. 0,3806 CO_2 0,0801 H_2O keine Asche
Gef. 64,1% C 5,52% H

Ich versuchte nun, in diesen Körper Silber einzuführen. Der dabei erhaltene schwarze Körper war vollständig metallfrei und zeigte dieselben Eigenschaften wie das Ausgangsmaterial. Der Versuch war also negativ ausgefallen.